*Postverlagsort Berlin*

# PLANTA

## ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
**J. BONNER**-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH
**H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK, **R. HARDER**-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN
**W. RUHLAND**-UNTERDEUFSTETTEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

**L. BRAUNER**
MÜNCHEN

**E. BÜNNING**
TÜBINGEN

54. BAND, 3. HEFT
MIT 85 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 18. JANUAR 1960)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1960

Planta (Berl.)

*Preis DM 31.80*

# Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland, L. Brauner* und *E. Bünning*


Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Die eingereichten Arbeiten sollen 2 Druckbogen (à 16 Druckseiten) in der Regel nicht überschreiten.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40. — für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

*Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität,* oder an

*Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.*


**Springer-Verlag**

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 830301
und
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 27901


54. Band — **Inhaltsverzeichnis** — 3. Heft


Seite

Demeter, O., und O. Renner, Über Modifikationen bei Cyanophyceen. II. Über die Wirkung von Giften. Mit 14 Textabbildungen . . . . . 195

Thielke, Ch., Die Panaschüre von *Acorus*. Mit 10 Textabbildungen . . . . . 210

Bopp, M., Hemmung der Induktionsvorgänge bei Wurzelhalsgallen durch 2-Thiouracil und 5-Bromuracil . . . . . 221

Oltmanns, O., Über den Einfluß der Temperatur auf die endogene Tagesrhythmik und die Blühinduktion bei der Kurztagpflanze *Kalanchoë blossfeldiana*. Mit 16 Textabbildungen . . . . . 233

Wirth, K., Experimentelle Beeinflussung der Organbildung an in vitro kultivierten Blattstücken von *Begonia rex*. Mit 16 Textabbildungen . . . . . 265

Schwemmle, J., Keimversuche auf genetischer Grundlage. I. Die Lichtabhängigkeit. Mit 24 Textabbildungen . . . . . 294

Eschenbecher, F., Zur Kenntnis der Samenhaare von *Epilobium hirsutum*. Mit 3 Textabbildungen . . . . . 314

Winter, E., Über Vorkommen und Entstehungsbedingungen des Farbstoffes Intybin. Mit 2 Textabbildungen . . . . . 326



Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta 54, 195–209 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

# ÜBER MODIFIKATIONEN BEI CYANOPHYCEEN

## II. ÜBER DIE WIRKUNG VON GIFTEN*

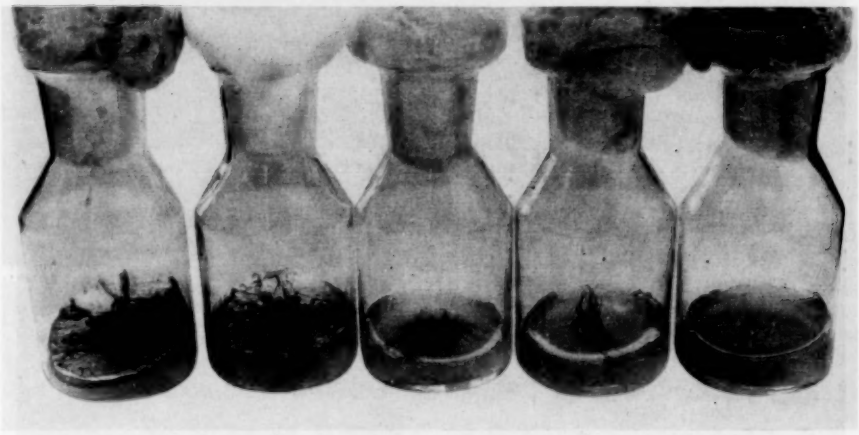
Von

O. DEMETER und O. RENNER

Mit 14 Textabbildungen

*(Eingegangen am 5. Oktober 1959)*

Auf der Suche nach Mutationen wurden bakterienfreie Kulturen verschiedener Blaualgen nicht nur mit ungiftigen Mineralsalzlösungen



a b c d e

Abb. 1. *Anabaena apospora* auf Erythrosin. b 1:100000, c 1:50000, d 1:25000, e 1:12500. a Auf Standardnährboden ohne Farbstoff. 15 Tage alt

behandelt, wie früher mitgeteilt (DEMETER 1956), sondern zur gleichen Zeit auch mit Stoffen, die schon in geringen Mengen giftig wirken und als mehr oder weniger mutagen bekannt sind: Eosin, Erythrosin, Gentianaviolett, Methylenblau, Neutralrot; Coffein, Colchicin; Formalin, $\beta$-Indolylessigsäure; Kupfersulfat. Bleibende Veränderungen, also Dauermodifikationen oder Mutationen, wurden auch in diesen Versuchen nicht entdeckt. Über die beobachteten reversiblen Modifikationen wird im folgenden berichtet.

Der Standardnährboden enthielt wie früher 1% Agar in Benecke-Lösung mit Erdabkochung. Zur Kultur dienten 100 ml-Steilbrustflaschen unter Osram-Tageslichtröhren, die Temperatur war $27 \pm 2^0$ C. Die zu prüfenden Lösungen wurden durch ein Bakterienfilter gesogen und nach Abkühlung des sterilisierten Nähr-

* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

bodens auf 38° C mittels steriler Pipette zugegeben. Jeder Versuch wurde in 3 Kölbchen angesetzt. Während der Versuchsdauer — 20—30 Tage — stieg die Konzentration der zugesetzten Stoffe infolge Verdunstung aus der Nährgallerte

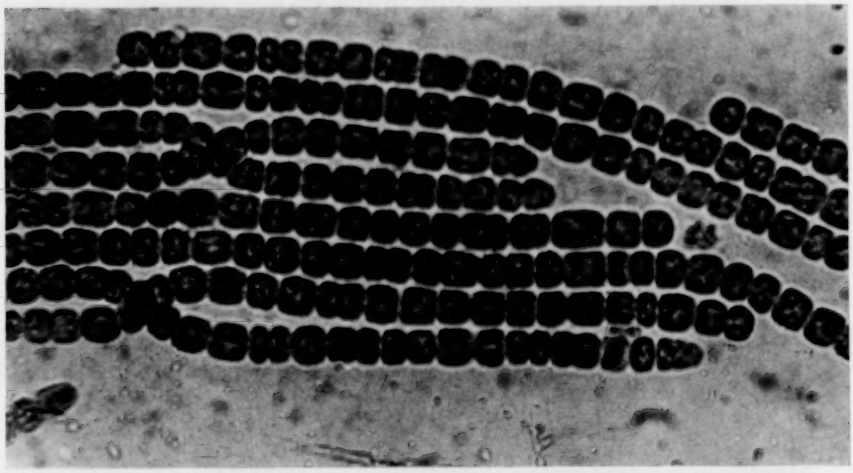


Abb. 2. *Anabaena apospora* auf Methylenblau 1:50000. 18 Tage alt

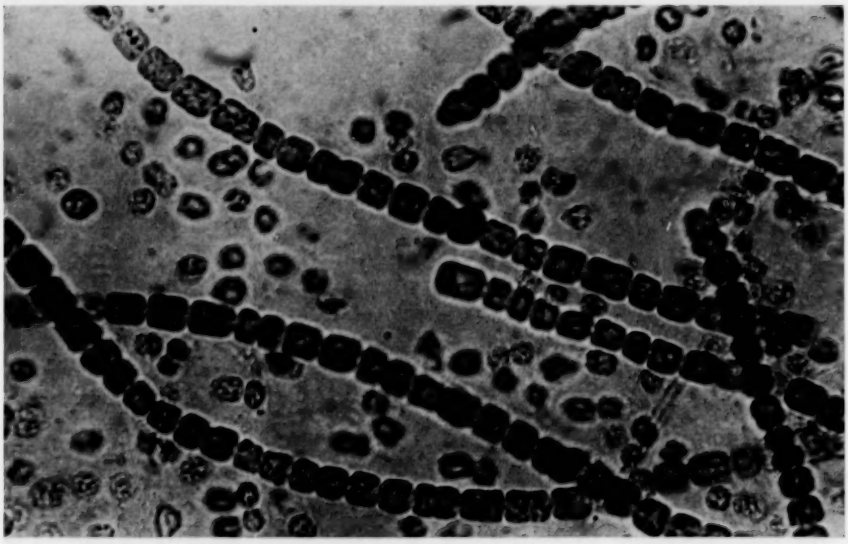


Abb. 3. *Anabaena apospora* auf Methylenblau 1:25000. 18 Tage alt

durch den Wattestopfen in unkontrollierter Weise, und die Farbstoffe zeigten schon durch Ausblassen (die Mehrzahl, am stärksten Eosin und Erythrosin) oder Änderung des Farbtons (Neutralrot) an, daß sie sich, wohl unter der Wirkung des Lichts, chemisch veränderten. Streng genommen gelten also die Angaben über die Zusammensetzung des Substrates nur für den Versuchsbeginn genau. Wenn

nach anfänglichem sehr schwachem Wachstum aus dem Impffleck die Fäden z. B. unter Anfärbung absterben, hängt das wahrscheinlich mit der Erhöhung der Konzentration des Giftes zusammen. — Farbstoffe von Merck (1 und 2) und Bayer.

## I. Einzelbeschreibung der Formen und der Versuche

In den Protokollauszügen werden wie früher folgende Abkürzungen verwendet: Dm Durchmesser; DZ Dauerzellen; Het Heterocysten; Sta Standardnährlösung;

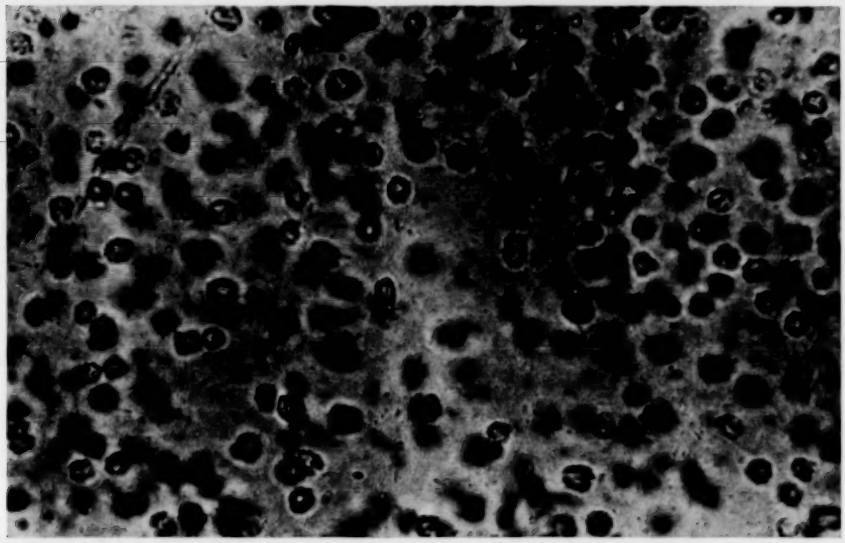


Abb. 4. *Anabaena apospora* auf Methylenblau 1 : 12 500. 18 Tage alt

Su produzierte Substanzmenge, geschätzt; Tr Trichome; Tr-Z Trichomzellen, gewöhnliche; Z Zellen.

### *1. Anabaena „apospora"*

Auf Sta dunkel blaugrün, in ziemlich dicken gekrümmten Strängen wachsend, die später zu einem flachen, ziemlich dicken Lager zusammenfließen; Tr-Z tonnenförmig, 5,6—*6,2*—7,7 $\mu$ breit, meist etwa $^2/_3$ so lang wie breit; Het kugelig bis ellipsoidisch, ziemlich zahlreich; DZ fehlen.

Auf Erythrosin nach 15 Tagen (Abb. 1). 1:250000: normal. — 1:100000: fast normal. — 1:50000: Lager dünner, Su 0,5; Het selten. — 1:25000: Lager mit langen dünnen Strängen, Su 0,2; Het sehr selten. — 1:12500: Lager dunkel olivgrün bis dunkelgrün, kleines, dickliches Klümpchen, von dem kurze Stränge auslaufen, bis zu einem Dm von 9 mm; Tr-Z etwas schmaler als normal, 5,3—*5,8*—6,7 $\mu$ breit.

Auf Gentianaviolett nach 17 Tagen. 1:250000: Wachstum schon stark gehemmt, Su 0,5; Tr-Z 5,3—*5,7*—6,7 $\mu$; Het selten. — 1:100000: Lager schwarzgrün. — 1:50000: Stränge an den Enden fein zerteilt, Su 0,25. — 1:25000: Lager schwarzgrün, in gekrümmte Stränge aufgelöst, Su 0,2; Tr-Z 4,9—*5,3*—5,7 $\mu$ breit. — 1:12500: Lager kreisförmig, in Stränge zerteilt, Su 0,08; Tr-Z 3,5—5,5 $\mu$ breit, stark granuliert.

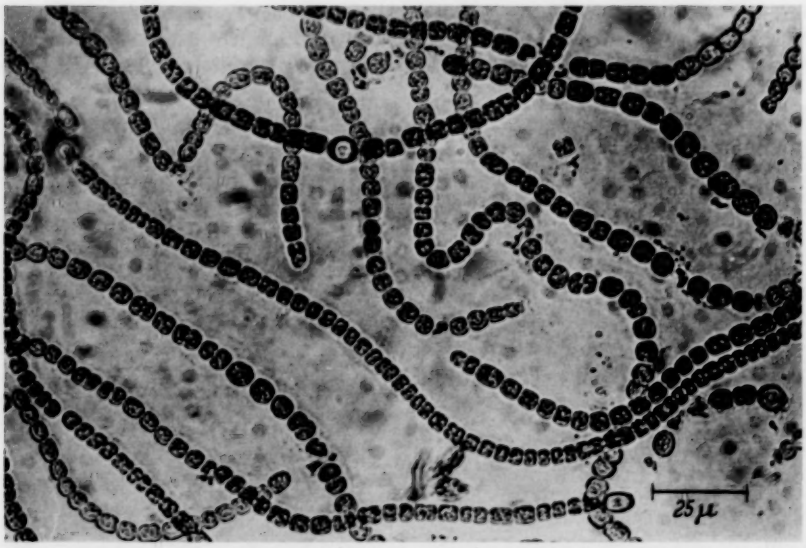



Abb. 5. *Anabaena variabilis* auf 1 % NaCl, 40 Tage alt

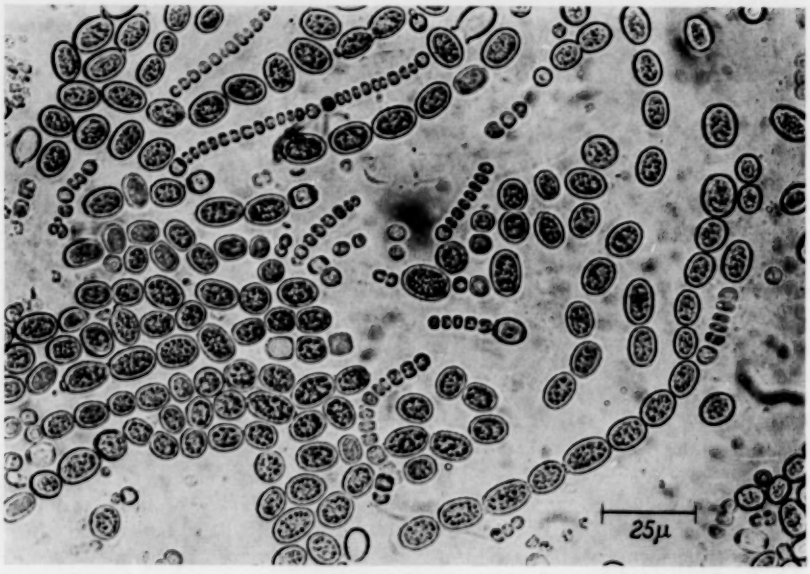
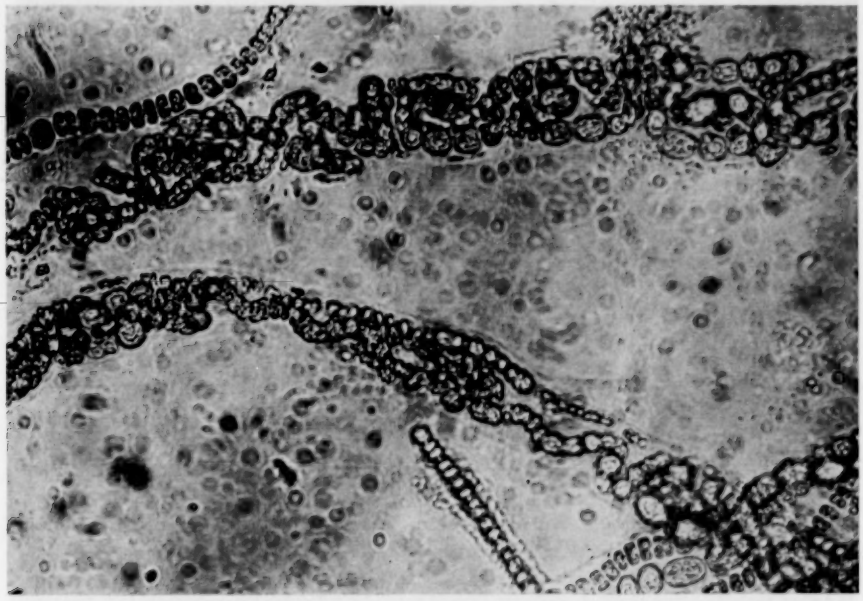


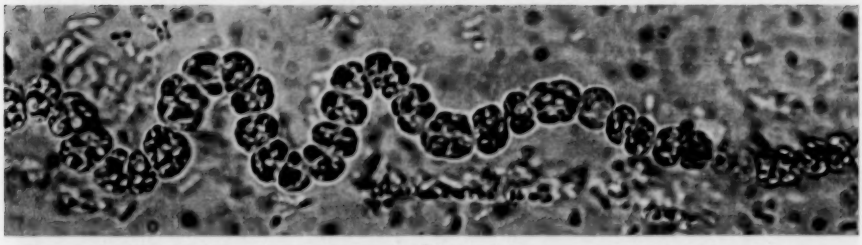

Abb. 6. *Anabaena variabilis* auf Sta, 32 Tage alt, mit sehr vielen Dauerzellen; statt 25 μ ist 35 μ zu lesen

Auf Methylenblau nach 18 Tagen. 1:250000: fast normal, Het noch ziemlich häufig. — 1:100000: Lager dünner, Su 0,5; Het fehlen. — 1:50000: Lager noch dünner, Su 0,3; Tr-Z eher zylindrisch als tonnenförmig (Abb. 2); Het fehlen. — 1:25000: noch dünner, Su 0,25; Tr-Z 5,8—*6,1*—6,6 μ breit,

zahlreiche Zellen isoliert, scheinen geschädigt (Abb. 3); Het fehlen. — 1:12500: Lager ein dünnes feinmaschiges Netz von oliv- bis gelbgrünen Strängen, am Rande fein fransig; Tr bei der Einlegung in Wasser ganz in stark granulierte, anscheinend geschädigte Einzelzellen zerfallend, diese sehr unregelmäßig in der Form,



a



b

Abb. 7 a u. b. *Anabaena variabilis* auf Eosin 1:25000. a Mit dicken Gallertscheiden, b mit unregelmäßig gestalteten Zellen. 18 Tage alt

Dm 3,0—5,5 $\mu$ (Abb. 4). Auch aus solchen Zellen gehen auf Sta wieder normale Fäden hervor.

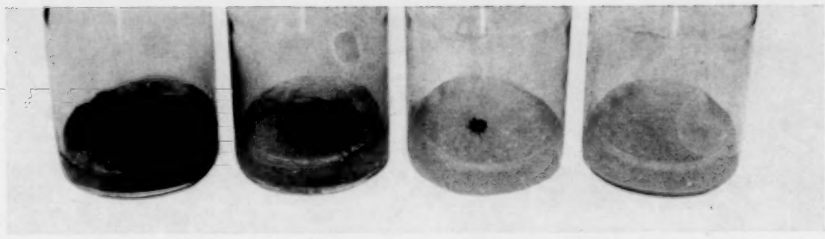
### 2. *Anabaena variabilis* Kütz.

Auf Sta Wachstum in dicken Strängen (Bild nach 10 Tagen bei Demeter, S. 111, Abb. 2), später flaches, annähernd kreisförmiges, schwarzgrünes Lager (Abb. 8a); Tr-Z kurz tonnenförmig, 5,9—*6,6*—7,1 $\mu$ breit, 4,8—6,7 $\mu$ lang, Het kugelig oder seltener länglich (Abb. 5); DZ in Reihen, tonnenförmig, 7,5—*8,6*—9,6 $\mu$ breit, 11,0—*12,0*—14,5 $\mu$ lang; in 30—40 Tage alten Kulturen sind fast sämtliche Tr-Z

in DZ umgewandelt (Abb. 6); auf 1,0% NaCl fehlen nach 40 Tagen fertige DZ (Abb. 5).

Auf Eosin nach 18 Tagen. 1:250000 und 1:100000: wenig verändert. — 1:50000: Lager kreisförmig und strahlig, dunkel blaugrün bis bräunlichgrün, Su 0,7; Tr, Het und DZ normal. — 1:25000: Wachstum sehr gehemmt, Lager dick, mit strahlig auslaufenden Strängen, Su 0,08; Tr im Habitus teilweise sehr verändert, mit unregelmäßig geformten Z, oft in dicke Gallertscheiden eingebettet (Abb. 7); Het sehr selten, DZ normal. — 1:12500: fast kein Wachstum mehr, nur kleines Klümpchen, von dem kurze, dünne, hellgrüne Stränge ausstrahlen; Tr kurz, wirr durcheinander liegend; Z schmäler als normal (4,4—*5,1*—5,7 $\mu$ breit); Het sehr selten; DZ normal. — Aus 1:25000 und 1:12500 auf Sta geimpftes Material gibt wieder normale Fäden und Lager.

Auf Erythrosin nach 18 Tagen (Abb. 8). 1:250000: dickes Lager, dunkel blaugrün bis schwarzgrün, Su 0,65 (Abb. 8b); Tr kurz; Het und DZ normal. — 1:100000:



a b c d

Abb. 8. *Anabaena variabilis* auf Erythrosin. b 1:250000, c 1:100000, d 1:50000. a Auf Sta ohne Zusatz. 18 Tage alt

Wachstum sehr gehemmt, Lager im Dm 6 mm (Abb. 8c); Het normal; DZ länglich tonnenförmig, bis 18 $\mu$ lang (Abb. 9). — 1:50000: kein Wachstum mehr (Abb. 8d).

Auf Methylenblau nach 19 Tagen. 1:250000: Lager schwarz- bis dunkel blaugrün, am Rand mit dünnen stark gekrümmten Strängen, Su 0,5; Tr normal, DZ selten, länglich. — 1:100000: sehr gehemmt, 1 mm großes gallertiges Klümpchen, von dem einzelne dünne schwarzgrüne Stränge bis zu 4 mm Dm auslaufen; Tr kurz; viele längliche DZ, in Reihen oder einzeln. — 1:50000: ähnlich wie vorher. — 1:25000: kleines schwarzgrünes Klümpchen; alle Tr-Z in DZ umgewandelt. — 1:12500: Z blau angefärbt, abgestorben, auf Sta nicht mehr keimend.

Auf Neutralrot nach 35 (sic) Tagen. 1:250000: Su 0,9; Tr fast ganz aus DZ bestehend. — 1:100000: sehr gehemmt, sonst Tr, Het, DZ normal. — 1:50000: Lager schwarzgrün, 4—5 mm im Dm, Stränge kurz, Su 0,1; Tr teilweise kurz, DZ zahlreich, zum Teil degenerierend. — 1:25000: schwärzliches Klümpchen, Su 0,02; Tr-Z von sehr verschiedener Form, kuglig oder ellipsoidisch oder zylindrisch; Het normal; DZ wenige; die deformierten Z keimen auf Sta zu normalen Fäden aus. — 1:12500: alle Z angefärbt, tot.

Auf Formalin nach 22 Tagen. 1 mg/l: ziemlich normal. — 2,5 mg/l: Lager am Rand in dünne Stränge auslaufend, Su 0,5; Het normal; fast alle Tr-Z in DZ verwandelt. — 5,0 mg/l: noch mehr gehemmt, Su 0,1, mit dünnen Strängen; Tr lang, mit Het und Dz. — 7,5 mg/l: kein Wachstum mehr.

Auf $CuSO_4$ nach 25 Tagen. 1 mg/l: Lager in dünnen Strängen, Su 0,25; etwa die Hälfte der Tr-Z in DZ umgewandelt; Het normal. — 2,5 mg/l: kein Wachstum mehr.

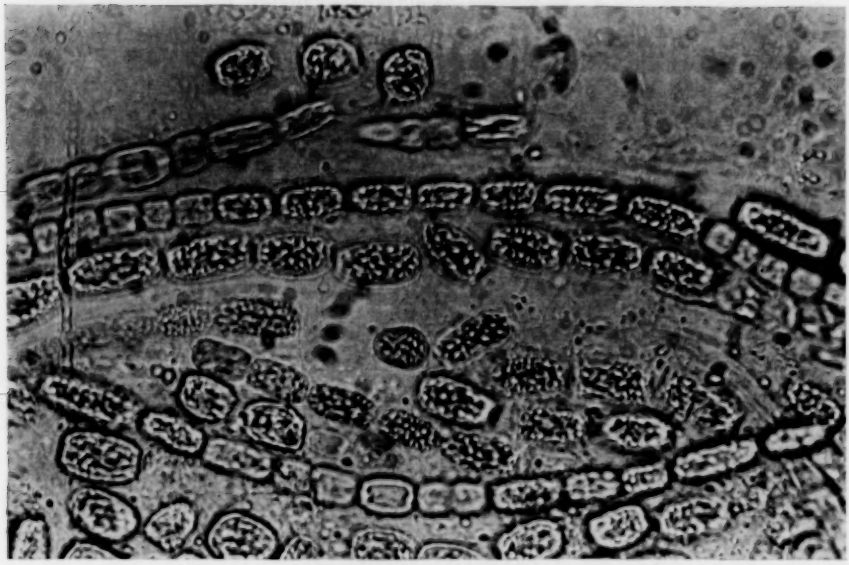


Abb. 9. *Anabaena variabilis* auf Erythrosin 1: 100 000. Dauerzellen verlängert, vgl. Abb. 6. 18 Tage alt

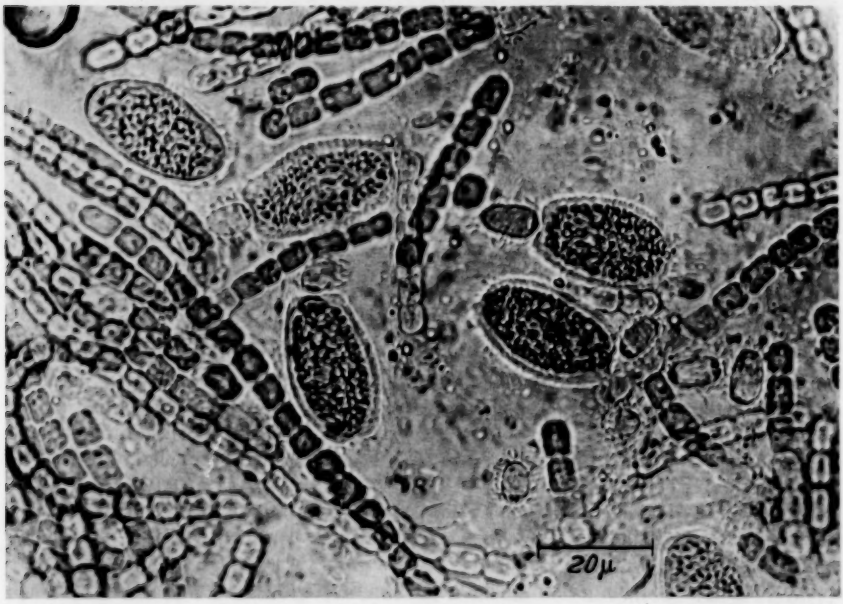



Abb. 10. *Cylindrospermum alatosporum* auf Sta, 25 Tage alt

### 3. *Anabaena oscillarioides* Bory

Auf Sta schwarzgrünes Lager mit ziemlich dicken, ineinanderfließenden Strängen. Bild mit Het und DZ bei Demeter (S. 109, Abb. 1a).

Auf $\beta$-Indolylessigsäure nach 12 Tagen. 1 mg/l und 5 mg/l: normal. — 10 mg/l: und 20 mg/l: Lager von normaler Form und Farbe, leichte Wachstums*förderung*, Su 1,3. — 50 mg/l: Lager etwas dünner, blaugrün, Su 0,9. — 100 mg/l: starke Wachstumshemmung, dünnes, blaugrünes, wenig ausgefranstes Lager, Su 0,2. — 20 mg/l: kein Wachstum mehr. — Tr, Het, DZ überall normal.

### 4. *Cylindrospermum alatosporum* Fritsch

Auf Sta: Lager eine zähe, kreisförmig wachsende Haut mit gefranstem Rand, lebhaft blaugrün, später schwarzgrün; Tr lang, dicht verschlungen; Z zylindrisch,

a b c d e

Abb. 11. *Cylindrospermum alatosporum* auf Erythrosin. b 1:250000, c 1:100000, d 1:50000, e 1:25000. a Auf Sta ohne Zusatz. 21 Tage alt

an den Enden etwas eingeschnürt, 4,6—*4,75*—5,8 $\mu$ breit, ebensolang wie breit bis doppelt so lang wie breit, Het einzeln am Ende der Tr, ellipsoidisch, 5,1—6,4 $\mu$ breit, 5,8—9,7 $\mu$ lang; DZ immer einzeln hinter einer Het, zylindrisch, mit dicker farbloser Innenschicht und farbloser, radial gestreifter, im optischen Schnitt als „Flügel" erscheinender Außenschicht, 20,0—*23,1*—26,5 $\mu$ lang (Abb. 10).

Auf Eosin nach 27 Tagen. 1:250000: Lager etwas dünner, Su 0,9; Tr normal. — 1:100000: Su 0,85; Het in großer Zahl frei liegend; DZ spärlich, normal. — 1:50000: Lager schmutziggrün, Su 0,8; Het massenhaft frei; DZ selten, ohne „Flügel". — 1:25000: Lager innen dick, schwarzgrün, außen dünnere dunkelgrüne Haut, Su 0,8; Het in Massen frei, kuglig oder ellipsoidisch oder zylindrisch, anscheinend mehr oder weniger geschädigt; DZ selten, ohne Flügel. — 1:12500: Lager noch dünner als vorher, am Rand fein gefranst, Su 0,5; Het zahlreich; DZ häufiger als vorher (Zufall?), ohne Flügel, verlängert, bis 31 $\mu$ lang.

Auf Erythrosin nach 21 Tagen (Abb. 11). 1:250000: Lager etwas heller, sonst normal; DZ häufig, aber ohne „Flügel". — 1:100000: ähnlich wie vorher. — 1:50000: Lager dünner, Su 0,8; Tr lang, normal; Het normal, selten frei liegend; DZ mäßig häufig, ohne Flügel. — 1:25000: Su 0,75; DZ meist länglich, nicht so lang werdend wie vorher. — 1:12500: kein Wachstum mehr (ob zufällig? Der rasche Abfall ist auffallend).

Auf Gentianaviolett nach 21 Tagen. 1:250000: Lager und Tr normal, DZ mäßig häufig, länglich, bis 31,8 $\mu$ lang, einzelne mit schwachem Flügel. — 1:100000: Lager in der Mitte dick, am Rande nur noch dünner Schleier, Su 0,8; Tr wie vorher. 1:50000: Lager ein dünnes Häutchen, in feinste Fäden auslaufend; Het normal, an jedem Tr-Ende; DZ fehlen. — 1:25000: Lager ein schwarzgrünes Klümpchen von 1,5 mm Dm; Tr-Z von wechselnder Breite, bis 7,3 $\mu$ breit (Abb. 12); Het zahlreich, DZ fehlen. — 1:12500: kein Wachstum mehr.

Auf Methylenblau nach 21 Tagen. 1:250000: Lager innen dick, schwarzgrün, außen dünner, dunkelgrün, am Rand zart und gefranst, Su 0,6; Tr normal; DZ teilweise mit schwachem Flügel. — 1:100000: Lager ein kreisförmiger, hellgrüner, hauchdünner Schleier, Su 0,1; Tr lang, also seltener fragmentiert als gewöhnlich,

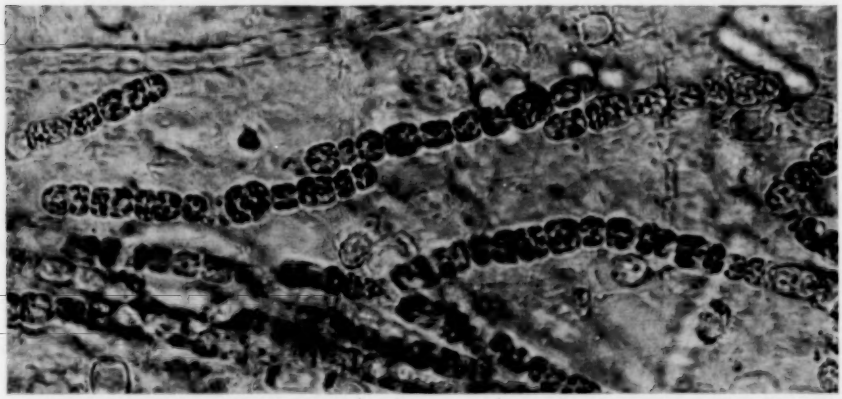


Abb. 12. *Cylindrospermum alatosporum* auf Gentianaviolett 1:25000, Zellen unregelmäßig verbreitert. 21 Tage alt

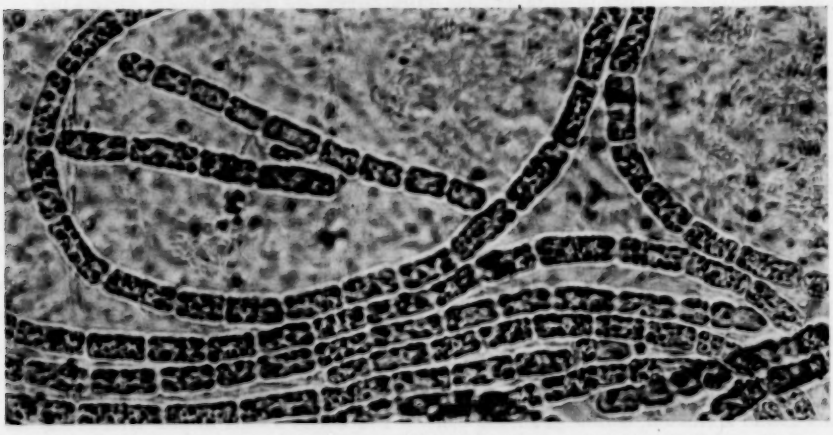


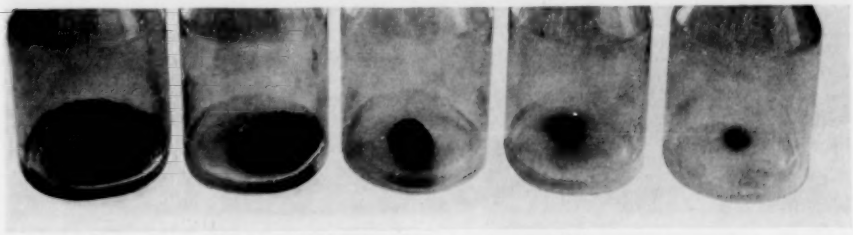
Abb. 13. *Cylindrospermum alatosporum* auf Methylenblau 1:100000, Zellen verlängert. 21 Tage alt

mit verlängerten, etwas verschmälerten (durchschn. 4,6 $\mu$ breiten) Zellen (Abb. 13); Het im Verband selten, auch frei liegend; auf Sta geimpft wieder normal wachsend. 1:50000: nur feine Ausläufer aus dem Impfklümpchen, Z wie vorher, zur Zeit der Untersuchung blau angefärbt, in Wasser meist isoliert, tot. — 1:12500: kein Wachstum.

Auf Neutralrot nach 22 Tagen. 1:250000: normal. — 1:100000: Lager dünner, Su 0,9; DZ weniger häufig. — 1:50000: sehr dünnes kreisförmiges hellgrünes Lager, Su 0,4; Tr ziemlich lang, mit vereinzelten endständigen Het, ohne DZ. — 1:25000: kein Wachstum.

Auf Coffein nach 30 Tagen. 0,005%: Su 0,9, sonst normal. — 0,01%: dickes dunkelgrünes Lager mit schwach ausgefranstem Rand, Su 0,5; Tr normal. — 0,025%: ähnlich wie vorher, Su 0,2; Tr und DZ normal, Het sehr zahlreich. — 0,05%: dickes, schwarzgrünes, klumpiges Lager, Su 0,09; Tr ziemlich kurz; Het massenhaft, ohne Inhalt; DZ seltener.

Auf Colchicin nach 20 Tagen. 0,005%: Lager häutig, schwarz- bis dunkelgrün, Su 0,85; Tr normal. — 0,01%: Su 0,7, sonst wie vorher. — 0,025%: Lager ziemlich dünn, in der Mitte blaugrün, nach außen hellgrün, der fransige Rand gelbgrün, Su 0,4; Tr in der Mitte normal, mit Het und DZ, am Rand viele Het, sehr wenige DZ. — 0,05%: Lager dünn, gelbbraun, ohne Fransen, Su 0,2; Tr gelb; Het massenhaft, meist isoliert und leer erscheinend; auf Sta wieder normale Trichome.



a b c d e

Abb. 14. *Cylindrospermum licheniforme* auf Colchicin. b 0,005%, c 0,01%, d 0,025%, e 0,05%. a Auf Sta ohne Zusatz. 30 Tage alt

Auf Formalin nach 22 Tagen. 1 mg/l: Su 0,95, sonst normal. — 2,5 mg/l: Su 0,85, sonst normal. — 5 mg/l: Su 0,5, sonst normal. — 10 mg/l: kein Wachstum mehr. — Reine Wachstumshemmung.

Auf $CuSO_4$ nach 17 Tagen. 1 mg/l: Lager dicht, Su 0,6; Tr normal, doch DZ selten. — 2,5 mg/l: Lager häutig, blaugrün, Su 0,08; Tr lang, Het und DZ selten. — 5 mg/l: kein Wachstum.

### 5. *Cylindrospermum licheniforme* Kütz.

Auf Sta Lager eine blaugrüne, dann schwarzgrüne, zuletzt schwarzbraune Haut mit fast glattem Rand; Tr-Z 5,7—*6,5*—7,0 $\mu$ lang; Het endständig, einzeln; DZ hinter den Het einzeln, mit rötlichbrauner Außenschicht, 27,0—35,1 $\mu$ lang. — Vgl. Demeter S. 113, 114 (Abb. 3).

Auf Neutralrot nach 35 Tagen. 1:250000: Lager in der Mitte schwarzbraun, am Rand zerrissen, dunkelgrün, Su 0,5. — 1:100000: Lager in der Mitte schwarzgrün, am Rand stark ausgefranst, hier gelblichgrün bis gelbbraun, Su 0,3; Het und DZ spärlich, sonst normal. — 1:50000: Su 0,25, sonst wie vorher. — 1:25000: Lager ein kleines schwarzbraunes Klümpchen, Het und DZ sehr spärlich; auf Sta geimpft wieder normal wachsend. — 1:12500: noch schwächer, Dm des Lagers 1,5 mm, zur Zeit der Untersuchung alle Z leicht angefärbt; auf Sta kein Wachstum, also tot.

Auf Colchicin nach 30 Tagen (Abb. 14). 0,005%: Lager dick, schwarzbraun, am Rand etwas ausgefranst, Su 0,75; Tr normal. — 0,01%: Lager dick, Su 0,45; Tr normal, DZ sehr groß, bis 40 $\mu$ lang. — 0,025%: Lager in der Mitte dick, am Rand in feine hellgrüne Fransen aufgelöst, Su 0,2. — 0,05%: Lager wie vorher, Su 0,09; Tr-Z bis 9 $\mu$ lang; Het und DZ äußerst selten; auf Sta geimpft wieder normales Wachstum.

Auf Formalin nach 40 Tagen. 1 mg/l: dicke schwarzbraune Haut, Su 0,9. — 2,5 mg/l: dickes schwärzliches Lager mit gelapptem Rand, Su 0,4. — 5,0 mg/l: Lager dick, schwärzlich mit dunkelgrünem Saum, Su 0,09. — 10 mg/l: kein Wachstum mehr. — Tr, Het, DZ normal.

Auf β-Indolylessigsäure nach 15 Tagen. 1 mg/l, 5 mg/l und 10 mg/l: unverändert. — 20 mg/l: Lager dick, schwarzgrün, Su 0,4. — 50 mg/l: Lager dick, bräunlich, Su 0,15. — 100 mg/l: ähnlich wie vorher. — 200 mg/l: Lager dick, hellgrün; Dm 4 mm. — 300 mg/l: kein Wachstum. — Tr, Het, DZ normal, nur von 20 mg/l an die Tr-Z stärker granuliert.

### *6. Oscillatoria limosa* Ag.

Wachstum der Gattung auf Sta in dünnen Strängen, die Schleifen oder Wirbel bilden (vgl. Demeter, S. 116, Abb. 6, 19 Tage alt). Lager schwarzgrün, zuletzt gelblichbraun. (Het und DZ fehlen der Gattung.)

Auf Colchicin nach 22 Tagen. 0,005%: Lager gelblichbraun, sonst normal. — 0,001%: Su 0,9, sonst wie vorher. — 0,025%: Stränge dünner, noch spiralig wachsend, Su 0,75. — 0,05%: nicht spiralig, sondern diffus wachsend, schwarzgrün, stellenweise bräunlich, Su 0,4. — Die Tr scheinen durch das Alkaloid ähnlich geschädigt wie durch höhere Konzentrationen von NaCl usw.

Auf β-Indolylessigsäure nach 25 Tagen. 1 mg/l: Su 0,8, sonst Lager normal, schwarzgrün. — 10 mg/l: Lager dünn, braungrün, Su 0,4; Tr nicht verändert, nur die Z stärker granuliert. — 20 mg/l: kein Wachstum.

Auf $CuSO_4$ nach 16 (sic) Tagen. 1 mg/l: Lager dünn, olivgrün, strahlenförmig, Su 0,2; Tr unbeweglich, Z stark granuliert. — 2,5 mg/l: kein Wachstum.

## II. Besprechung

Daß die dargebotenen Gifte in die Zellen aufgenommen werden, steht außer Zweifel, nach der Wirkung, die von ihnen ausgeht. Echte Zellsaftvacuolen sind nicht vorhanden (vgl. z. B. Drawert 1949, S. 205), die Farbstoffe z. B. werden also in das Quellungswasser des Protoplasma (gegebenenfalls auch der Granula) eingelagert, aber in so geringen Mengen, daß eine deutliche Veränderung des satten, meist blaugrünen Farbtons des Chromoplasma durch das Fremdpigment nicht zu beobachten war, bei den basischen wie bei den sauren Farbstoffen, weder am ganzen Lager noch an einzelnen in Wasser gebrachten Trichomen. Auf höheren Farbstoffkonzentrationen mit dem Fremdton angefärbte Fäden erwiesen sich immer als entwicklungsunfähig, waren also tot.

In Neutralrot 1:10000, also bei höherer Konzentration als wir sie verwendeten, und in kurzdauernden Versuchen, treten z. B. nach Drawert u. Metzner (1956, S. 294) bei *Cylindrospermum*, doch nicht bei *Anabaena* rot gefärbte Vacuolen und Entmischungskörper auf. Eine Verstärkung der Granulation wurde in unseren Protokollen bei höheren Konzentrationen der angebotenen Stoffe oft registriert, aber auf eine Mitteilung wurde im vorstehenden meist verzichtet, weil die granulären Einschlüsse (vgl. z. B. Drews u. Niklowitz 1957, Tischer 1957) nicht genauer untersucht wurden.

Die Eigenfarbe der Lager verschob sich bei geschwächtem Wachstum von Blaugrün manchmal zu einem helleren Grün, bei *Anabaena variabilis* auf Methylenblau bis zu Gelbgrün, bei *Cylindrospermum alatosporum* auf Colchicin zu Gelbbraun (einzelne Trichome erschienen gelb). Die Phycocyanbildung wird also besonders leicht gestört, wie auch bei Stickstoffmangel beobachtet (vgl. z. B. Demeter, S. 128).

Allgemeine Wirkung der giftigen Stoffe ist eine unspezifische Wachstumsminderung. Zuerst nimmt die Dicke der Lager ab, bei stärkerer Hemmung wird der Rand in Fransen aufgelöst. Auch der Durchmesser der annähernd kreisförmigen Lager verringert sich mit steigender Kon-

Tabelle

Die unbenannten Zahlen unter den Artnamen bedeuten die Substanzproduktion Su, wobei 1 der normalen entspricht. Wo Su nicht geschätzt wurde, ist der Durchmesser des Lagers in mm angegeben, der normale Dm beträgt 4—5 cm.

| | | *Anabaena apospora* Su | *Anabaena variabilis* Su | *Cylindrospermum alatospermum* Su | *Cylindrospermum licheniforme* Su | *Oscillatoria limosa* Su |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Eosin | 1:250000 | | 1 | 0,9 | | |
| | 100000 | | ~1 | 0,85 | | |
| | 50000 | | 0,7 | — | | |
| | 25000 | | 0,08 | 0,8 | | |
| | 12500 | | >0 | 0,5 | | |
| Erythrosin | 1:250000 | 1 | 0,65 | 1 | | |
| | 100000 | <1 | 6 mm | 1 | | |
| | 50000 | 0,5 | 0 | 0,8 | | |
| | 25000 | 0,2 | — | 0,75 | | |
| | 12500 | 9 mm | — | 0 | | |
| Gentianaviolett | 1:250000 | 0,5 | 4 mm | 1 | | |
| | 100000 | <0,5 | <4 mm | 0,8 | | |
| | 50000 | 0,25 | 1 mm | dünn | | |
| | 25000 | 0,20 | 0 | 1,5 mm | | |
| | 12500 | 0,08 | — | 0 | | |
| Methylenblau | 1:250000 | ~1 | 0,5 | 0,6 | | |
| | 100000 | 0,5 | 1 | 0,1 | | |
| | 50000 | 0,3 | <1 | sehr schwach | | |
| | 25000 | 0,25 | <1 | 0 | | |
| | 12500 | 15 mm | — | — | | |
| Neutralrot | 1:250000 | | 0,9 | 1 | 0,5 | |
| | 10000 | | schwach | 0,9 | 0,3 | |
| | 50000 | | 0,1 | 0,4 | 0,25 | |
| | 25000 | | 0,02 | — | schwach | |
| | 12500 | | >0 | — | 1,5 mm | |
| Coffein | 0,005% = 1:20000 | | | 0,9 | | |
| | 0,01 % 10000 | | | 0,5 | | |
| | 0,025% 4000 | | | 0,2 | | |
| | 0,05 % 2000 | | | 0,09 | | |

Tabelle (Fortsetzung)

| | *Anabaena apospora* Su | *Anabaena variabilis* Su | *Cylindrospermum alatosporum* Su | *Cylindrospermum licheniforme* Su | *Oscillatoria limosa* Su |
|---|---|---|---|---|---|
| Colchicin 0,005% = 1:20000 | | | 0,85 | 0,75 | 1 |
| 0,01 % 10000 | | | 0,7 | 0,45 | 0,9 |
| 0,025% 4000 | | | 0,4 | 0,2 | 0,75 |
| 0,05 % 2000 | | | 0,2 | 0,09 | 0,4 |
| Formalin 1 mg/l = 1:1000000 | | 1 | 0,95 | 0,9 | |
| 2,5 „ 400000 | | 0,5 | 0,85 | 0,4 | |
| 5,0 „ 200000 | | 0,1 | 0,5 | 0,09 | |
| 7,5 „ 13000 | | 0 | — | — | |
| 10 „ 10000 | | — | 0 | 0 | |
| Indolylessigsäure | *Anabaena oscillarioides* | | | | |
| 1 mg/l = 1:1000000 | 1 | | | 1 | 0,8 |
| 5 „ 200000 | 1 | | | — | — |
| 10 „ 100000 | 1,3 | | | 1 | 0,4 |
| 20 „ 50000 | 1,3 | | | 0,4 | 0 |
| 50 „ 20000 | 0,9 | | | 0,15 | |
| 100 „ 10000 | 0,2 | | | 0,15 | |
| 200 „ 5000 | 0 | | | 4 mm | |
| 300 „ 3300 | — | | | 0 | |
| $CuSO_4$ 1 mg/l = 1:1000000 | | 0,25 | 0,6 | | 0,2 |
| 2,5 „ 400000 | | 0 | 0,08 | | 0 |
| 5 „ 200000 | | — | 0 | | |

zentration des schädigenden Stoffes immer mehr; während auf reinem Nährboden fast die ganze Fläche im Kölbchen, mit 5 cm Durchmesser, in der Beobachtungszeit bewachsen wird, vergrößert sich der Impffleck unter Umständen nur zu einem Scheibchen von wenigen mm Durchmesser. Gewöhnlich wurde versucht, die Substanzproduktion (Su) im Vergleich mit der normalen = 1 aus Durchmesser und Dicke des Lagers zu schätzen. Eine Übersicht der gefundenen Werte, teils als Su, teils als Durchmesser des Lagers angegeben, zeigt die Tabelle.

Nach Gewichtsmengen verglichen sind die Alkaloide Coffein und Colchicin weniger giftig als die Farbstoffe. Am wenigsten schädigt β-Indolylessigsäure, die bei *Anabaena oscillarioides* in den Verdünnungen 1 : 100000 und 1 : 50000 sogar leichte Förderung hervorrief. Am giftigsten ist Kupfersulfat, dann folgt Formaldehyd; die auf „Formalin" bezogenen Verdünnungszahlen sind sogar noch ungefähr zu verdoppeln, weil das käufliche Formalin 40% Formaldehyd enthält.

In kurz dauernden Versuchen fand Herbst (1952) Colchicin bei Blaualgen in Konzentrationen von 0,1—0,4% wirkungslos, dagegen Trypaflavin schon in der Verdünnung 1:1 Mill. hochgiftig. Bakterien sind nach Meier (1955) gegen Colchicin recht wenig empfindlich; bei einer Kulturdauer von 24 und mehr Stunden wirkte deutlich hemmend erst eine Konzentration von 10 mg/cm³, also von 1%.

Für *Anabaena variabilis* ordnen sich die geprüften Farbstoffe nach der Giftigkeit in dieser Reihenfolge: Gentianaviolett > Methylenblau > Erythrosin > Neutralrot > Eosin. Für *Anabaena „apospora"* ist die Reihe: Gentianaviolett > Methylenblau > Erythrosin. Für *Cylindrospermum alatosporum:* Methylenblau > Erythrosin ≃ Eosin > Gentianaviolett ≃ Neutralrot. Dabei ist Erythrosin für *Anabaena apospora* und vollends für *A. variabilis* viel giftiger als für *Cylindrospermum alatosporum* (vgl. Abb. 1, 8, 11). Colchicin ist für *Cylindrospermum* etwas giftiger als für *Oscillatoria limosa*, und $\beta$-Indolylessigsäure ist in der Konzentration 1:100000 für *Oscillatoria* schon stark hemmend, bei *Anabaena oscillarioides* schien sie im Gegenteil zu fördern; Wiederholung der Versuche wäre erwünscht.

Die Zahl der Heterocysten kann sich vermindern, so bei *Anabaena variabilis* auf Eosin, bei *Anabaena apospora* auf Erythrosin, bei *Cylindrospermum licheniforme* auf Neutralrot. Die Heterocysten können ganz unterdrückt werden, so bei *Anabaena apospora* auf Methylenblau. Sie können bei *Cylindrospermum* vermehrt werden und dann, anscheinend geschädigt, im Präparat in Menge frei herumliegen, auf Eosin, Coffein, Colchicin. Wie die vermehrten Het zunächst angeordnet sind, ist nicht klar geworden; über die Bildung der Het im Trichom vgl. z. B. Geitler (1932, S. 38), der berichtet, daß „abnormerweise Ketten von 10 und mehr Het" vorkommen. Bei Kultur in kleinen feuchten Kammern auf Deckglas, mit wenig Agar, wurde versucht, das Wachstum einzelner Fäden, zunächst auf optimalem Nährboden, zu beobachten, aber die Trichome lebten nie lange genug; besser wäre wohl, die beimpften Deckgläser in größeren feuchten Kammern zu halten und nur zur Untersuchung herauszunehmen.

Von den Dauerzellen wurde früher beobachtet, daß sie bei schwachem Wachstum der Lager auf starken Salzlösungen gewöhnlich nicht mehr ausgebildet werden. Bei *Anabaena variabilis*, die in älteren Kulturen auf Normalnährböden sämtliche Trichomzellen in Dauerzellen umwandelt, wird dieser Prozeß auch durch die Farbstoffe, Formalin, Kupfersulfat wenig gestört. Bei *Cylindrospermum alatosporum* war die Zahl der Dauerzellen vermindert auf Eosin, Coffein und Colchicin; ihre Bildung unterblieb auf Gentianaviolett und Neutralrot. — Die artspezifische Differenzierung der dicken Membranen der Dauerzellen von *Cyl. alatosporum* in Innenschicht und „Flügel" wurde schon bei geringer Wachstumsminderung unterdrückt.

Die Gestalt und die Größe der Dauerzellen wurde durch mäßige Farbstoffkonzentrationen mitunter etwas verändert. Sie waren bei *Anabaena variabilis* auf Erythrosin beträchtlich verlängert, weniger bei *Cyl. alatosporum* auf Eosin und Gentianaviolett.

Die Trichomzellen werden bei gemindertem Wachstum nicht selten etwas verschmälert. Auffallend verlängert wurden sie bei *Cylindro-*

*spermum alatosporum* auf Methylenblau. Unregelmäßig war ihre Gestalt, im Zusammenhang mit welliger Krümmung der Fäden, bei *Anabaena variabilis* auf Eosin; zugleich wurden hier die Trichome teilweise in dicke Gallertscheiden eingeschlossen (ähnlich wie bei *Oscillatoria limosa* auf $Na_2SO_4$, vgl. DEMETER, S. 117). In Einzelzellen zerfielen die Trichome von *Anabaena apospora*, jedenfalls bei der Überführung in Wasser, auf Methylenblau 1 : 12500.

Auch in hohem Maß geschädigt erscheinende blasse Trichome, wie die eben erwähnten zerfallenden, liefern auf gesunden Nährboden zurückgebracht wieder normale Lager, wie früher an Material beobachtet, das durch Mineralsalze stark modifiziert war.

## Zusammenfassung

Die Wirkung der geprüften Substanzen: 5 Farbstoffe, 2 Alkaloide, Formaldehyd, $\beta$-Indolylessigsäure, Kupfersulfat, beschränkt sich fast ganz auf unspezifische Wachstumshemmung, die mit steigender Konzentration der Gifte zunimmt. Mitunter wird die Bildung der Heterocysten oder der Dauerzellen beeinträchtigt oder ganz unterdrückt, andererseits kann die Zahl der Het (bei *Cylindrospermum*) auffallend vergrößert werden; die Gestalt der Dauerzellen kann etwas abgeändert werden. Morphogene Wirkungen an den Trichomen sind noch weniger ausgesprochen als sie auf starken Lösungen ungiftiger Mineralsalze beobachtet wurden. Die auffälligsten Reaktionen waren Verschmälerung und Verlängerung der Zellen bei *Cylindrospermum*, Bildung von Gallertscheiden bei *Anabaena variabilis*, Zerfall der Trichome in Einzelzellen bei *Anabaena „apospora"*. Auch aus den am stärksten modifizierten und scheinbar geschädigten Trichomen gehen auf giftfreiem Nährboden wieder normale Lager hervor.

## Literatur

DEMETER, O.: Über Modifikationen bei Cyanophyceen. Arch. Mikrobiol. **24**, 105—133 (1956). — DRAWERT, H.: Zellmorphologische und zellphysiologische Studien an Cyanophyceen. I. Mitt. Planta (Berl.) **37**, 161—209 (1949). — DRAWERT, H., u. INGEBORG METZNER: Fluoreszenz- und elektronenmikroskopische Beobachtungen an Cylindrospermum und einigen anderen Cyanophyceen. Ber. dtsch. bot. Ges. **69**, 291—300 (1956). — DREWS, G., u. W. NIKLOWITZ: Beiträge zur Cytologie der Blaualgen. III. Untersuchungen über die granulären Einschlüsse der Hormogonales. Arch. Mikrobiol. **25**, 333—351 (1956/57). — GEITLER, L.: Cyanophyceae (Blaualgen). RABENHORSTS Kryptogamenflora, Bd. 14, Leipzig 1932. — HERBST, F.: Strahlenbiologische und cytologische Untersuchungen an Blaualgen. Diss. Köln (Manuskr.) 1952. — MEIER, K. E.: Einfluß von Colchicin auf Bakterien. Naturwiss. **42**, 183 (1955). — TISCHER, ILSE: Untersuchungen über die granulären Einschlüsse und das Reduktionsvermögen der Cyanophyceen. Arch. Mikrobiol. **27**, 400—428 (1957).

Prof. Dr. O. RENNER,
Botanisches Institut der Universität, München 19, Menzingerstraße 67

Planta 54, 210—220 (1960)

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Freien Universität Berlin

# DIE PANASCHÜRE VON *ACORUS*

Von

CHARLOTTE THIELKE

Mit 10 Textabbildungen

*(Eingegangen am 9. Oktober 1959)*

Die panaschierten Arten von *Acorus* haben in zwei Zeilen angeordnete aufeinander reitende Schwertblätter, die stets auf der zueinander gewendeten Seite blaß und auf der abgewendeten Seite grün sind (Abb. 1 und 9). Diese Verteilung von grünen und blassen Arealen ist derart regelmäßig, daß sie nur entwicklungsmechanisch bedingt sein kann. Nach oberflächlicher Betrachtung könnte man meinen, es liege hier eine sectorial zusammengesetzte Pflanze vor. Solche Sectorialchimären sind z. B. von *Tradescantia albiflora*, *Zebrina pendula* und *Hemerocallis fulva* beschrieben worden (THIELKE 1954, 1955). Bei ihnen konnten die beiden Hälften des gleichen Blattes zwei genetisch verschiedenen Komponenten angehören. Bei *Acorus* sind auch die beiden Hälften des Schwertfortsatzes, entsprechend der besonderen Form des unifacialen Flachblattes, auf Innen- und Außenseite bzw. auf adaxialer und abaxialer Seite voneinander verschieden; die jeweils adaxial gelegene Hälfte ist blaß, und die abaxiale Seite ist grün. Die Grenze zwischen den beiden Gewebekomponenten verläuft etwa längs der Mitte, doch können leichte Überschneidungen vorkommen. Im Bereich der bifacialen Scheide findet der blasse Gewebeanteil bei allen Blättern seine direkte Fortsetzung in den beiden Blatträndern, während der grüne Anteil sich auf die Scheidenmitte beschränkt. Das Hochblatt der Inflorescenz besitzt ebenfalls auf der adaxialen Seite farbloses Gewebe. Der Inflorescenzstiel hat in Kontinuität dieses Musters adaxial farblose Flügel; an der Basis ist er jedoch ziemlich gleichmäßig graugrün. Nach dieser Anordnung wäre es zwar möglich, daß die beiden genetisch verschiedenen Komponenten am Vegetationskegel auch

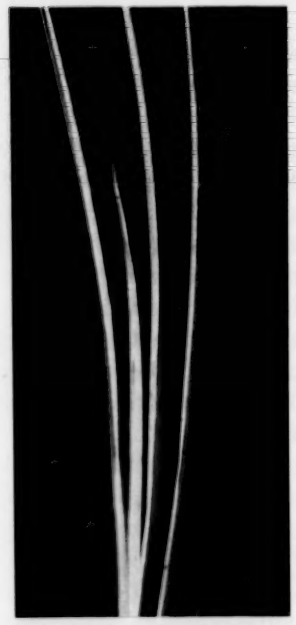


Abb. 1. *Acorus calamus* var. *variegatus*

„sectorial" verteilt sind; es müßte dann in Richtung der Blattanlagenmedianen ein grünes Mittelfeld von zwei seitlichen blassen Arealen eingeschlossen sein. Doch dürfte dann die Insertion der Blattanlagen nur auf jeweils dem halben Umkreis des Vegetationskegels erfolgen. Diese Annahme könnte bei reitenden Blättern kaum zutreffen. Es ist außerdem sehr unwahrscheinlich, daß eine stabile sectoriale Verteilung zweier Komponenten bei allen Pflanzen nach dem gleichen Muster erfolgen sollte.

Nach den bisherigen Erfahrungen an Sectorialchimären verschiebt sich zwar das Verteilungsmuster häufig noch am gleichen Sproß, es kann aber auch über mehrere Nodien hinweg stabil bleiben; nur selten ist dann ein gleichartiges Muster bei verschiedenen Sprossen zu finden. Aus Erfahrungen an Periklinalchimären wissen wir aber, daß diese an der stets einheitlichen Beschaffenheit der Blatträndern zu erkennen sind. Bei den parallelnervigen Monocotylenblättern können dabei trotzdem mehrfach gestreifte Blätter entstehen, wie sie von *Dracaena*, *Chlorophytum*, *Hosta (Funckia)*, *Commelina benghalense*, *Tradescantia fluminensis*, *Phalaris* und *Oplismenus* beschrieben worden sind (THIELKE 1948a, 1951, 1954).

Die Deutung, daß die panaschierten *Acorus*-Formen Periklinalchimären seien, würde recht gut die Stabilität ihrer Musterung erklären. Diese Deutung läßt sich ebenfalls mit den anatomischen Tatsachen recht gut vereinbaren. Das ganze Blatt ist, wie das Beispiel von *Acorus calamus* var. *variegatus* zeigt, sowohl im Bereich der Scheide als auch am Schwertfortsatz als auch im Bereich der Inflorescenz von mindestens zwei blassen Zellschichten überzogen. Dieses albicate Gewebe erscheint — makroskopisch betrachtet — blaßgelb. Es führt kleine Plastiden, die — nur im Fluorescenzmikroskop erkennbar — wenig Chlorophyll besitzen. Dieser Chlorophyllgehalt ist jedoch variabel. So kann der blasse Anteil des Schwertfortsatzes auf der einen Seite wesentlich mehr Chlorophyll führen als auf der anderen. Vermutlich spielt hier die Stellung der Blätter zum Licht eine Rolle. Auch die Epidermis besitzt blaßgrüne Plastiden sowohl in ihren Schließzellen als auch in den übrigen Zellen. Da sie alle etwas kleiner sind und schwächer fluorescieren, als es bei den Plastiden des rein grünen Mesophylls der Fall ist, kann man wohl annehmen, daß sie genetisch zum albicaten Gewebe gehören. Daß auch die Stomata albicater Gewebe Chlorophyll führen können, ist von anderen Chimären her bekannt (THIELKE 1954). Die Zahl dieser blassen Zellschichten kann auf der Blattfläche vermehrt sein, wie es die schematischen Querschnitte Abb. 2a—d angeben. Die Scheidenränder sind — entsprechend der Skizze — vollständig albicat und laufen in einen zweischichtigen Hautsaum aus. Der Stiel der Inflorescenz ist auf der adaxialen Seite abgeplattet (Abb. 2d), das grüne Gewebe auf dieser Fläche sowie das grüne Gewebe auf der abaxialen Seite sind von der Epidermis stets durch mindestens eine blasse Zellschicht getrennt.

Abweichend davon berichten WULFF und FRITZ (1958), daß bei ihrem variegaten, vermutlich tetraploiden Material mindestens 3—4 chlorophyllfreie Zellschichten im Zusammenhang auftreten und daß in der Nachbarschaft von Leitbündeln das grüne Gewebe bis an die Epidermis heranreichen kann. Dabei könnte es sich vielleicht um eine triplochlamyde Periklinalchimäre handeln, deren Stabilität im Bereich der Leitbündel nicht sehr groß ist, so daß dort die Binnenkomponente an die Oberfläche treten kann. Auch in anderer Hinsicht verhalten sich die hiesigen Pflanzen abweichend. Blütenschäfte sind mehrfach aufgetreten; und die von WULFF und FRITZ als charakteristisch bezeichnete S-förmige Krümmung der Blatt-

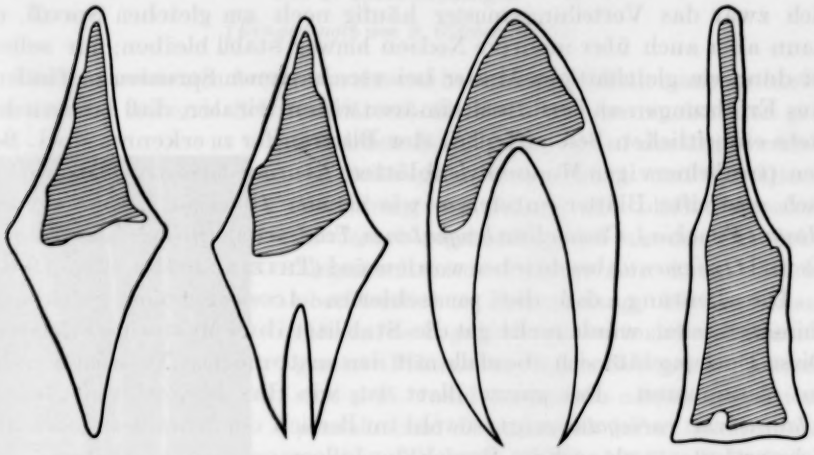
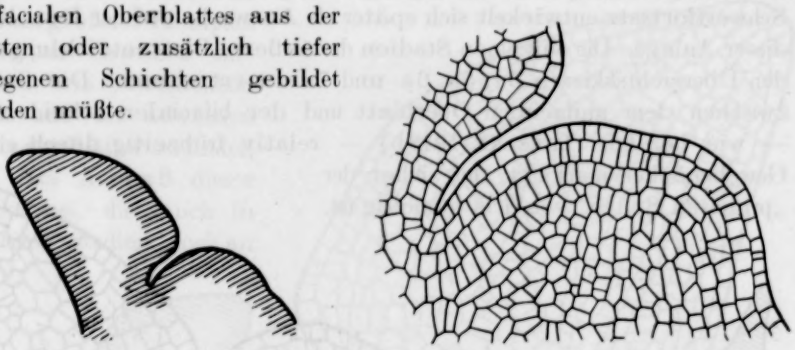



Abb. 2 a—d. Verteilung von albicatem und normal grünem Gewebe im Blatt von *Acorus calamus* var. *variegatus* dargestellt an schematischen Querschnitten. Zwischen der Epidermis und dem grünen Gewebekern ist jeweils mindestens eine blasse Zellschicht eingeschoben. a Querschnitt durch die Mitte des Schwertfortsatzes. b Querschnitt durch den oberen Bereich der Scheide. c Querschnitt durch den unteren Bereich der Scheide. d Querschnitt durch die Basis des Infloreszenzstiels

spitze ist in gleich starker Ausprägung nicht erkennbar. Die leichte Krümmung (Abb. 1) könnte auch durch das ohnehin meist schwächere Wachstum chlorophylldefekten Gewebes erklärt werden.

Bei dem hiesigen Material der beiden Arten scheint es sich nach den morphologischen und anatomischen Kennzeichen um albotunicate Periklinalchimären zu handeln. Für den entwicklungsmechanischen Verlauf der Ausbildung eines Blattes müßte dann eine Reihe von Vorgängen nachzuweisen sein, wenn die oben geäußerte Annahme von der Natur der Panaschüre bei *Acorus* richtig ist. *Acorus calamus* var. *variegatus* und *Acorus gramineus* var. *argenteostriatus* müßten einen geschichteten Vegetationskegel mit mindestens zweischichtiger Tunica besitzen. Bei der Blattbildung sollte anfangs die Beteiligung von wenigstens drei Zelllagen nachweisbar sein; und in der Folge müßten diese Schichten in unterschiedlicher Anteilnahme das Blatt auf der adaxialen und der abaxialen Seite aufbauen. Das Mesophyll an den Rändern der Scheide

und auf der adaxialen Seite des Schwertfortsatzes dürfte nur aus den beiden äußeren Zellschichten hervorgehen, während das entsprechende Gewebe von der Mitte der Scheide und auf der abaxialen Seite des unifacialen Oberblattes aus der dritten oder zusätzlich tiefer gelegenen Schichten gebildet werden müßte.



a b

Abb. 3a u. b. Vegetationskegel von *A. calamus* var. *variegatus* im medianen Längsschnitt. a Übersicht, 70 ×. b Schichtung des Vegetationskegels und Anfangsstadium der Blattentwicklung, 200 ×

Für *Acorus calamus* var. *variegatus* hort. werden diese Erwartungen im wesentlichen durch die histogenetische Analyse bestätigt. Die Zellen des Vegetationskegels sind in allen Stadien des Plastochrons an der Oberfläche zu mindestens zwei voneinander unabhängigen Zellagen angeordnet (Abb. 3 u. 5). Sehr häufig sind auch drei bis vier Schichten zu beobachten. Da dann jedoch ab und an in der dritten und in der vierten Zellschicht einzelne perikline Aufteilungen zu sehen sind, sollte man hier nur von einer zweischichtigen Tunica sprechen. Schnitte, die senkrecht zur Blattanlagemedianen geführt sind, zeigen am Vegetationskegel stets nur zwei geordnete Zellreihen an der Oberfläche. Die Blattanlagen werden recht hoch am Scheitel inseriert. Bei den kleineren Vegetationskegeln der Achselknospen können sie fast terminal stehen (Abb. 4). Das hat zur Folge, daß bei jeder Blattanlegung der größte Teil des Vegetationskegels aufgebraucht wird und regeneriert werden muß. Diese Regeneration erfolgt augenscheinlich unter starker Beteiligung aller Elemente des Scheitels, wobei dann, besonders bei älteren und größeren Vegetations-

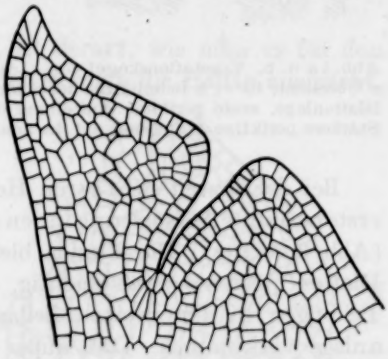
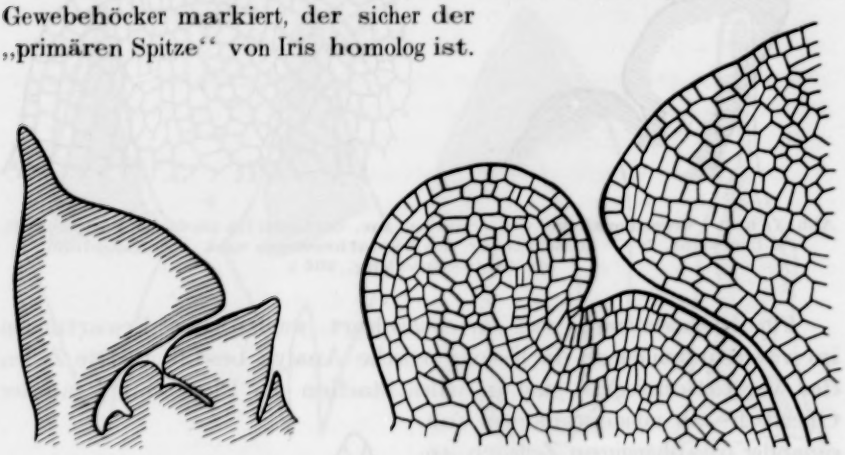


Abb. 4. Achselknospe von *A. calamus* var. *variegatus* im medianen Längsschnitt. Fast terminale Entstehung der rechten Blattanlage. Aufspaltung der zweiten Zellschicht auf der adaxialen Seite der linken Blattanlage, 200 ×

kegeln, eine regelmäßige Schichtung von vielen Zellen des Korpus auftreten kann. An einem größeren Vegetationskegel entsteht die junge Blattanlage anfangs als halbkugeliger Körper (Abb. 5). Der unifaciale Schwertfortsatz entwickelt sich später als Auswuchs auf der Dorsalseite dieser Anlage. Die einzelnen Stadien der äußeren Blattentwicklung sind den Übersichtsskizzen 3a, 5a, 6a und 7a zu entnehmen. Die Grenze zwischen dem unifacialen Oberblatt und der bifacialen Scheide wird — wie bei *Iris* (THIELKE 1948b) — relativ frühzeitig durch einen Gewebehöcker markiert, der sicher der „primären Spitze" von Iris homolog ist.

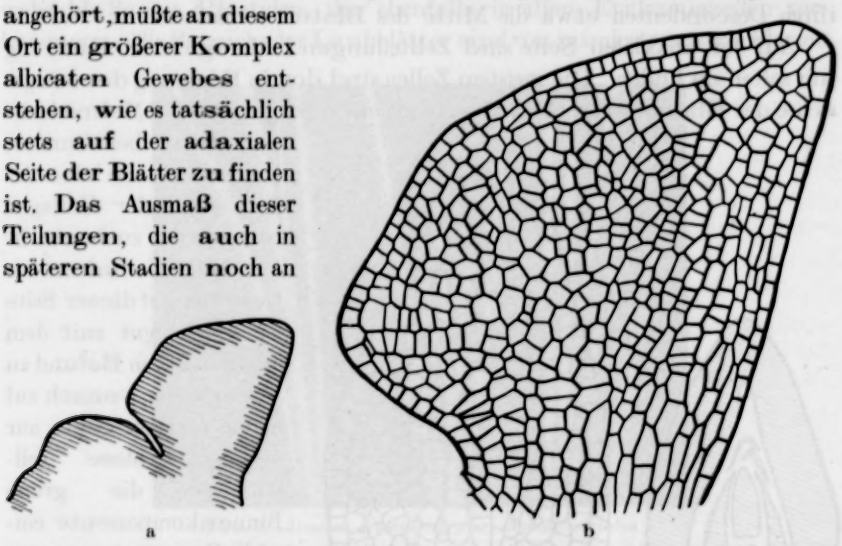


a b

Abb. 5 a u. b. Vegetationskegel von A. *calamus* var. *variegatus* im medianen Längsschnitt. a Übersicht, 40 ×. b Beteiligung der Schichten des Vegetationskegels am Aufbau der linken Blattanlage, erste perikline Aufteilung der zweiten Zellschicht auf der adaxialen Seite. Stärkere perikline Aufteilung auf der adaxialen Seite des rechten Blattprimordiums, 200 ×

Bei der ersten sichtbaren Hervorwölbung einer Blattanlage ist die erste perikline Aufspaltung in den äußeren Korpusschichten zu beobachten (Abb. 3 rechts). Die Tunica bleibt während der Frühentwicklung des Blattes meistens zweischichtig. Es können aber vereinzelt perikline Teilungen in der zweiten Zellage im Bereich der zukünftigen Blattanlage vorkommen. Daß außer der Tunica ein beachtlicher Komplex von Corpusgewebe an der Blattbildung beteiligt ist, kann man an einem etwas späteren Stadium erkennen. Auf der Darstellung der jungen Blattanlage in Abb. 5 ist die Herkunft des zukünftigen Mesophylls aus den Schichten des Vegetationskegels gut zu verfolgen. Mindestens vier Zellschichten treten in die Blattanlage ein. In diesem Alter beginnt auch die zweite Tunicaschicht auf der adaxialen Seite stärker aufzuspalten. Wenn an älteren Blättern die Grenze zwischen Ober- und Unterblatt durch eine vorgewölbte Spitze deutlich wird, dann geschieht die Ausbuchtung dieses Gewebehöckers in erster Linie durch die Teilungstätigkeit der zweiten Zellschicht. Die Descendenten dieser Schicht sind an ihrer reihenförmigen

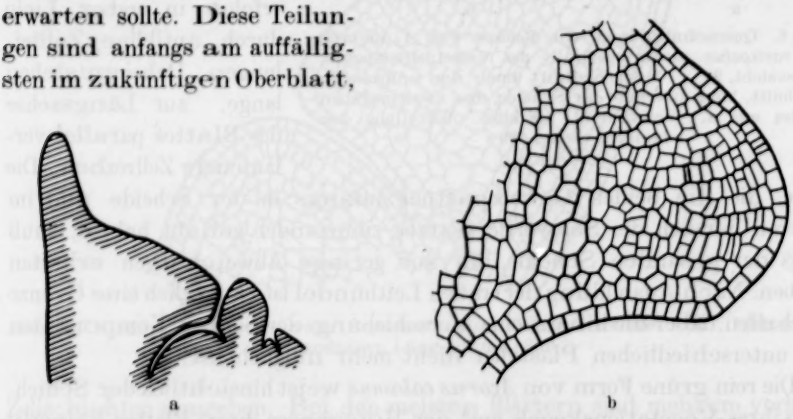
Anordnung überall zur erkennen (Abb. 5 rechts, 6 u. 7). Unter der Annahme, daß diese zweite Zellage der chlorophylldefekten Komponente angehört, müßte an diesem Ort ein größerer Komplex albicaten Gewebes entstehen, wie es tatsächlich stets auf der adaxialen Seite der Blätter zu finden ist. Das Ausmaß dieser Teilungen, die auch in späteren Stadien noch an



a b

Abb. 6 a u. b. Vegetationskegel von *A. calamus* var. *variegatus* im medianen Längsschnitt. a Übersicht, 70 ×. b Rechte Blattanlage aus a mit vorwiegend perikliner Teilung auf der adaxialen Seite und antikliner Teilung auf der abaxialen Seite, 200 ×

den breiten Reihen zu erkennen sind, ist derart, wie man es für den starken Anteil des blassen Gewebes, der ja etwa die Hälfte ausmacht, erwarten sollte. Diese Teilungen sind anfangs am auffälligsten im zukünftigen Oberblatt,



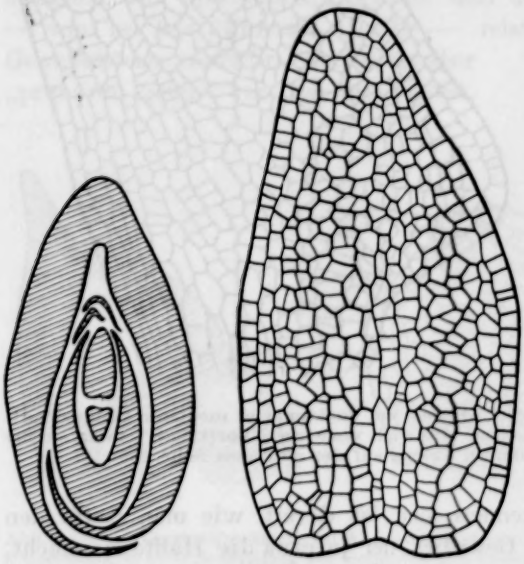
a b

Abb. 7 a u. b. Vegetationskegel von *A. calamus* var. *variegatus* im medianen Längsschnitt. a Übersicht, 50 ×. b Adaxiale Spitze des linken Blattprimordiums, 200 ×

sie greifen aber auch auf die zukünftige Scheidenregion über, die sich erst sehr viel später streckt. In manchen Schnittserien ist zu erkennen, daß diese horizontalen Zellreihen bis an die Blattmitte heranreichen.

Der Querschnitt Abb. 8 zeigt an der zweitjüngsten Blattanlage, die kurz oberhalb ihrer Scheidenregion getroffen ist, ebensolche Zellreihen, die in ihren Descendenten etwa die Mitte des Blattes erreichen.

Auf der abaxialen Seite sind Zellteilungen in der gleichen Richtung nur selten zu finden. Die meisten Zellen sind dort in Richtung der Längsachse des Blattes gestreckt und vorwiegend quer geteilt. Ein Mehrschichtigwerden bestimmter, zur Oberfläche des Organs paralleler Zellagen ist nirgends zu beobachten. Das Verhalten des Gewebes auf dieser Seite ist wieder gut mit dem anatomischen Befund zu vereinbaren, wonach auf der abaxialen Seite nur wenige farblose Zellschichten die grüne Binnenkomponente einschließen.



a b

Abb. 8. Querschnitt durch die Knospe von *A. calamus* var. *variegatus* etwas oberhalb des Vegetationskegels. a Übersicht, 27 ×. b Querschnitt durch den unifacialen Abschnitt, kurz oberhalb der Scheide, des zweitjüngsten Blattes aus a. Vorwiegend perikline Aufteilung der adaxialen Seite, 200 ×

Die Entwicklung der Scheide ist im einzelnen nicht weiter verfolgt worden. Ihre Streckung erfolgt in erster Linie durch antikline Zellteilungen. Dabei entstehen lange, zur Längsachse des Blattes parallel verlaufende Zellreihen. Die Lage, die die beiden Gewebepartner anfangs in der Scheide und im unteren Bereich des Schwertfortsatzes zueinander gehabt haben, muß längs der gesamten Scheide bis auf geringe Abweichungen erhalten bleiben. Nach Ausbildung der ersten Leitbündel ist zusätzlich eine Grenze geschaffen, über die hinaus eine Verschiebung der beiden Komponenten mit unterschiedlichen Plastiden nicht mehr möglich ist.

Die rein grüne Form von *Acorus calamus* weist hinsichtlich der Schichtung ihres Vegetationskegels und der Histogenese ihrer Blätter keinerlei Unterschiede zur panaschierten auf. Die äußere Form ihrer Blattentwicklung wurde früher kurz gestreift (THIELKE 1948 b). Weitere histologische Daten hat ROTH (1949) gegeben.

*Acorus gramineus* var. *argenteostriatus* (BULL.) BOOM. zeigt hinsichtlich seines morphologischen und anatomischen Aufbaus keine grundsätzliche

Abweichung (Abb. 9). Die in Abb. 2 gegebenen schematischen Skizzen lassen sich auch auf ihn übertragen. Auch hier besitzt das albicate Gewebe blaßgrüne Plastiden, die ebenfalls in allen Epidermiszellen vorkommen. Alle Bereiche der Laubblätter sind von mindestens zwei blassen

Abb. 9. *Acorus gramineus* var. *argenteostriatus*

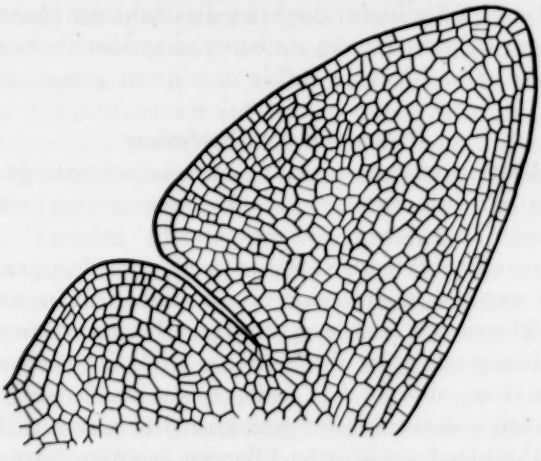


Abb. 10. *Acorus gramineus* var. *argenteostriatus*, Vegetationskegel und Blattanlage im medianen Längsschnitt, 200 ×

Zellschichten umgeben. Bei den meisten Blättern sind mehrere vorhanden, so daß größere Blatteile graugrün aussehen. Im Bereich der Blattscheide sind die Blattränder wieder beiderseits farblos. Inflorescenzen sind innerhalb der letzten fünf Jahre bei diesem Material nicht aufgetreten.

Der Vegetationskegel und die Frühentwicklung der Blätter weisen die gleichen Züge auf wie *Acorus calamus* (Abb. 10). Sie erreichen beide nur

eine geringere Größe, und ihre Zellen sind etwas kleiner. Die Blattanlagen werden wieder sehr hoch am Scheitel inseriert. Die äußeren Zellen des Vegetationskegels sind zu 3—4 Schichten angeordnet. Die ersten periklinen Teilungen, die die Blattbildung einleiten, finden vorwiegend in der dritten Zellage statt, sie können — etwas weniger häufig — auch in der zweiten vorkommen. Außerdem läßt sich nachweisen, daß stets mehr als zwei Zellagen am Aufbau des Blattes teilnehmen. An etwas älteren Blattprimordien findet man im Bereich des zukünftigen Schwertfortsatzes in antikliner Richtung verlaufende Zellreihen, die anzeigen, daß Descendenten der zweiten Zellage wesentlich am Aufbau der adaxialen Blatthälfte beteiligt sind. Auf der abaxialen Blatthälfte teilen sich die entsprechenden Zellschichten vorwiegend in der Längsrichtung des jungen Organs.

*Acorus gramineus* var. *argenteostriatus* wird also ebenso wie *Acorus calamus* var. *variegatus* eine albotunicate Periklinalchimäre sein. Der anatomische Aufbau und die Besonderheiten der Blattentwicklung deuten darauf hin, daß die Hauptmenge des albicaten Mesophylls allein aus der zweiten Zellschicht stammt. Die starke Vermehrung von Derivaten aus dieser Schicht allein auf der adaxialen Seite stimmt gut mit der Tatsache überein, daß diese Blatthälfte stets der blassen Komponente angehört. Auf der abaxialen Seite kommt es nie zu einer beachtlichen Verdickung dieser Zellschicht, doch ist die Zahl der plastidendefekten Zellen über dem grünen Gewebe stellenweise größer als bei dem bunten *Acorus calamus*. Das Blatt ist daher in seinem grünen Anteil stärker graugrün.

## Diskussion der Ergebnisse

Wenn bei Blättern eine entwicklungsmechanisch bedingte Panaschüre auftritt, dann wird die resultierende Musterung auch ein Abbild der vorangegangenen Entwicklungsvorgänge sein müssen. Bei parallelnervigen Monocotylenblättern ist daher immer Streifenpanaschierung zu erwarten. Bei sectorial gegliederten Pflanzen kann die Zusammensetzung aus diesen Sektoren der einzelnen streifigen Komponenten in ganz beliebiger Anordnung erfolgen. Die Sektoren eines Blattes werden in ähnlicher Kombination auch in dem entsprechenden Bereich des Stengels sowie im Bereich anderer Blätter und auch bei anderen Blattzeilen zu finden sein. Periklinal gegliederte Pflanzen besitzen immer eine regelmäßige Musterung; bei ihnen sind die Blattränder stets von einheitlicher Beschaffenheit. Bei Monocotylen kann das Mittelfeld dabei einheitlich *(Hosta)*, symmetrisch gestreift *(Dracaena)* oder auch unregelmäßig gestreift (panaschierte Gräser) sein. Im Bereich seiner bifacialen Scheide (Abb. 2c) entspricht das bunte *Acorus*-Blatt in seiner Musterung etwa dem Blatt von *Hosta*, nur daß *Hosta* eine haplochlamyde Periklinalchimäre mit ausgeprägt epidermalem Randwachstum ist, während der diplochlamyde *Acorus* in seinem bifacialen Abschnitt zwar einen epi-

dermalen Randsaum besitzt, das randliche Mesophyll jedoch durch subepidermales Randwachstum bildet. Epidermale Mesophyllbildung kommt bei ihm nicht vor.

Der unifaciale Blattabschnitt eines panaschierten Monocotylenblattes ist in der Vorläuferspitze von *Dracaena deremensis* var. *Bausei* und var. *Warneckei* beschrieben worden (THIELKE 1948a). Das Binnengewebe dieses Körpers geht im ersten Fall aus der zweiten und der dritten Schicht des Vegetationskegels hervor und ist einheitlich albicat; im zweiten Fall ist er grün und muß demnach vorwiegend aus der dritten Schicht hervorgegangen sein, die bei der var. *Warneckei* grün ist. Bei diesem im Querschnitt etwa kreisförmigen Körper findet ein Randwachstum der beiden äußeren Zellagen nicht statt. Der unifaciale Schwertfortsatz von *Acorus* ist in Richtung der Blattmedianen abgeflacht. Das subepidermale Randwachstum ist hier nur auf der ventralen (adaxialen) Seite vorhanden. Die genetische Beschaffenheit dieser Seite entspricht also in direkter Kontinuität der der Scheidenränder. Das epidermale Randwachstum dieser Ränder fehlt aber dem unifacialen Oberblatt von *Acorus*. Auch fehlt die ligulaartige epidermale Bildung, die bei *Dracaena* unterhalb der Vorläuferspitze auftritt und die obere Grenze des Unterblattes bildet.

Es liegt nahe, die hier beschriebene Panaschüre mit anderen panaschierten Schwertblattformen zur vergleichen, wie sie z. B. in der Gattung *Iris* vorkommen. Soweit mir bekannt, sind auch diese in ähnlicher Weise gemustert. Das gilt z. B. für eine früher kurz untersuchte *Iris* (THIELKE 1948a), deren Schwertfortsatz auf der adaxialen Seite einen breiten und auf der abaxialen Seite einen schmalen weißen Saum aufwies. Für diese Form wurde ebenfalls eine starke Teilungstätigkeit der subepidermalen Zellschicht festgestellt, eine Eigenheit, die einer anderen *Iris*-Art (*I. ochroleuca* THIELKE 1948b) bei der Ausbildung ihrer „primären Spitze" zukommt. Wenn die „perikline Aufteilung der subepidermalen Zellagen" (bei *Iris ochroleuca*) an diesem Ort von TROLL (1955, S. 550, nach Befunden ROTHS an einem wesentlich jüngeren Blatt von *Iris pumila*) angezweifelt wird, dann wäre die Existenz derart beschaffener Chimären — gleiche Entwicklung vorausgesetzt — ein weiterer Beweis für die Richtigkeit meiner Beobachtung, der zu den histologischen Tatsachen hinzukäme. Die anfangs im Bereich der „primären Spitze" geschaffene Verteilung der beiden Gewebepartner bleibt auch später bei der Streckung des gesamten Blattes im wesentlichen erhalten. Das resultierende Verteilungsmuster zeigt daher parallele Streifen. Nach meinen Erfahrungen besteht aber durchaus die Möglichkeit, daß verschiedene Arten der gleichen Gattung bezüglich der Entwicklung entsprechender Organe unterschiedliche Wege nehmen können. Die früher geprüfte albotunicate *Iris* unterscheidet sich von den hier diskutierten *Acorus*-Arten, die ebenfalls dem *status albotunicatus* angehören, durch

stärkere perikline Aufteilung der subepidermalen albicaten Zellschicht auch auf der abaxialen Seite des Schwertfortsatzes.

Dieser Unterschied dürfte bei einem Vergleich mit einer variegaten Form von *Iris pseudacorus* aus dem Botanischen Garten in Uppsala nicht vorhanden sein. Diese Pflanzen waren in ihrem unifacialen Abschnitt stets auf der adaxialen blaß und auf der abaxialen Seite grün. Histologisch sind sie nicht geprüft worden. Nach nur informatorischer Untersuchung einer rein grünen *I. pseudacorus* verläuft deren Blattentwicklung in den für diese Fragen wesentlichen Vorgängen der von *Acorus calamus* recht ähnlich.

## Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Panaschüre von *Acorus calamus* var. *variegatus* und von *Acorus gramineus* var. *argenteostriatus* kommt durch periklinalchimärischen Aufbau dieser Pflanzen zustande. Entsprechend dem status albotunicatus überziehen zwei Zellschichten mit Chlorophylldefekt einen Gewebekern mit normal grünen Plastiden. Die beiden Ränder der bifacialen Scheide sind durch subepidermale Mesophyllbildung blaß. Beim unifacialen Oberblatt befindet sich das albicate Mesophyll stets auf der adaxialen Seite. Die unterschiedliche Färbung der beiden Hälften des Schwertfortsatzes läßt sich durch seine Histogenese erklären, die auf beiden Seiten andersartig verläuft.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für gewährte Sachbeihilfe.

## Literatur

ROTH, I.: Zur Entwicklungsgeschichte des Blattes, mit besonderer Berücksichtigung von Stipular- und Ligularbildungen. Planta (Berl.) **37**, 299—336 (1949). — THIELKE, CH.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte und zur Physiologie panaschierter Blätter. Planta (Berl.) **36**, 2—33 (1948). — Beiträge zur Entwicklungsgeschichte unifacialer Blätter. Planta (Berl.) **36**, 154—177 (1948). — Über die Möglichkeiten der Periklinalchimärenbildung bei Gräsern. Planta (Berl.) **39**, 402—430 (1948). — Die histologische Struktur des Sproßvegetationskegels einiger Commelinaceen unter Berücksichtigung panaschierter Formen. Planta (Berl.) **44**, 18—74 (1954). — Die Struktur des Vegetationskegels einer sektorial panaschierten *Hemerocallis fulva* L. Ber. dtsch. bot. Ges. **68**, 233—238 (1955). — TROLL, W.: Über den morphologischen Wert der sog. Vorläuferspitze von Monokotylenblättern. Ein Beitrag zur Typologie des Monokotylenblattes. Beitr. Biol. Pflanz. **31**, 525—558 (1955). — WULFF, H. D., u. E. FRITZ: Untersuchungen an einem variegaten Kalmus (*Acorus Calamus* L.). Flora (Jena) **146**, 328—339 (1958).

Dozent Dr. CHARLOTTE THIELKE,
Pflanzenphysiologisches Institut der Freien Universität Berlin,
Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 1—3

Planta 54, 221—232 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

# HEMMUNG DER INDUKTIONSVORGÄNGE BEI WURZELHALSGALLEN DURCH 2-THIOURACIL UND 5-BROMURACIL

Von

MARTIN BOPP

*(Eingegangen am 21. Oktober 1959)*

Aus einer Reihe von vorwiegend indirekten Beweisen konnte abgeleitet werden, daß *Agrobacterium tumefaciens* mit Hilfe des sogenannten Tumorinduzierenden Prinzips (TIP) bei vielen Pflanzen Wurzelhalsgallen hervorruft (vgl. Zusammenfassung KLEIN und LINK 1955, BRAUN und STONIER 1958, STAPP 1958). Die Angaben über die Natur und in vitro-Darstellung dieses TIP sind alle noch recht unsicher (MANIGAULT, COMANDON und SLIZEWICZ 1956, KLEIN und KNUPP 1957, BENDER und BRUCKER 1959, THOMAS und KLEIN 1959) und stellen auch dort, wo es sich um mehr ins einzelne gehende Aufarbeitungen handelt (MANIGAULT und STOLL 1958a, b), noch immer ein Gemisch mehrerer zusammenwirkender Faktoren dar, die schließlich die Induktionswirkung oder eine dieser ähnlichen Wirkung hervorbringen. Es liegen eine Reihe von Anhaltspunkten dafür vor, daß in erster Linie DNS eine Rolle spielt, aber mit Recht schreiben BRAUN und STONIER (1958): „Although the tumor-inducing principle may eventually be shown to be a specific polymer of DNA, the information available at this time does not warrant such a conclusion."

Aus diesem Grunde versuchten wir das Problem von einer anderen Seite her anzugehen. Falls nämlich spezifische Nucleinsäuren — vor allem DNS — bei der Tumorinduktion in irgendeinem Stadium in Aktion treten, so muß es möglich sein, durch Substanzen, die die Synthese solcher Nucleinsäuren hemmen, die Entstehung von Wurzelhalsgallen zu unterdrücken. Solche Substanzen sind Bromuracil, das als Antagonist des Thymins in die DNS (vgl. u. a. WEYGAND, WACKER und DELLWEG 1952), und Thiouracil, das als Antagonist von Uracil in die RNS (u. a. HAMERS 1956) eingebaut wird. In noch stärkerem Maße als etwa bei der Blüteninduktion (HESS 1959) ist bei der Wurzelhalsgalleninduktion eine Neubildung der Steuerungssysteme zu erwarten, die dann durch Autoreduplikation an alle Zelldescendenten weitergegeben werden. Aus diesem Grunde ist es leicht möglich, daß die beiden Substanzen nur auf die Tumorbildung wirken, ohne daß die normale Pflanzenentwicklung gehindert wird.

## Material und Methode

Die Versuche wurden an *Kalanchoë (Bryophyllum) daigremontiana* R. HAMET et H. PERR DE LABATH durchgeführt, wobei die Pflanzen mindestens 4 Blattpaare angelegt haben mußten. Sie standen während der Sommermonate in einer Klimakammer bei 25° C und 8 Std Tag, in der übrigen Zeit in einem trockenen Gewächshaus, da sonst an den Infektionsstellen leicht Fäulnis eintritt.

Wenn nicht anders angegeben, wurden die Pflanzen an zwei gegenüberliegenden Blättern jeweils an 4 Stellen durch Einstiche verwundet und 24 Std später mit *Agrobacterium tumefaciens* Stamm 5.6 infiziert. Für jede Versuchsbedingung verwendeten wir durchschnittlich 10 Pflanzen. Die ersten Gallen traten etwa nach 14 Tagen auf. Da gerade bei der Infektion der Blätter offenbar eine Reihe noch nicht im einzelnen bestimmter Außenfaktoren eine Rolle spielen, ist es wichtig, jedesmal unter denselben Bedingungen eine Kontrolle mitlaufen zu lassen und die Versuchsergebnisse auf diese zu beziehen. Die Zahl der sich entwickelnden Gallen an den Kontrollen schwankte im Laufe des Jahres zwischen 45 und 90% der möglichen. Unter Berücksichtigung dieser Schwankungen läßt sich aber trotzdem die Anzahl der gebildeten Wurzelhalsgallen gut als ein quantitatives Maß verwerten.

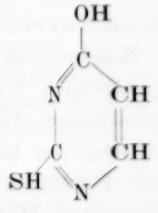
Tabelle 1. *Trockengewicht von Wurzelhalsgallen und Blattmesophyll*

| | Anzahl der Proben | Trockengewicht in % des Frischgewichtes |
|---|---|---|
| Gallen . . . . | 164 | $8{,}13 \pm 0{,}15$ |
| Normales Blatt | 100 | $4{,}05 \pm 0{,}11$ |

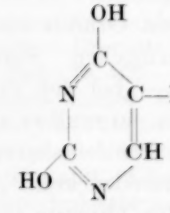
Außerdem wurde das Trockengewicht der Wurzelhalsgallen nach 4 Wochen bestimmt. Da die Wurzelhalsgallen innerhalb des lockeren Blattmesophylls ein relativ festes Gewebe bilden, lassen sie sich sehr exakt herausschneiden.

Tabelle 1 zeigt, daß das Trockengewicht der Blattumoren ungefähr doppelt so hoch ist wie das des umliegenden Mesophyllgewebes, was die Exaktheit dieser Bestimmung wesentlich erhöht.

5-Bromuracil und 2-Thiouracil (Merck, Darmstadt) wurden entweder in einer Konzentration von 20 $\gamma$/cm³ mit einer Knop-Nährlösung durch die Wurzeln bzw. die abgeschnittenen Sprosse zugeführt oder 0,1 cm³ einer Lösung von 200 $\gamma$/cm³ auf die Infektionsstelle aufgetropft.



2-Thiouracil



5-Bromuracil

Weitere Einzelheiten der Versuchsanstellung finden sich in der Beschreibung der Versuche.

## Experimenteller Teil

### *1. Behandlung von Agrobacterium tumefaciens mit 5-Bromuracil und 2-Thiouracil*

Zunächst wurde die Wirkung dieser Pyrimidine auf das Wachstum von *Agrobacterium tumefaciens* getestet. Dazu impften wir aus einer 24 Std alten Flüssigkeitskultur gleiche Mengen in eine Nährlösung über,

die je eine der beiden Substanzen in verschiedenen Konzentrationen von 5 bis 200 $\gamma$/cm$^3$ enthielt. Nach 24 Std Bebrütung bei 27° C zentrifugierten wir die Bakterien in graduierten Capillaren ab und stellten so den Zuwachs fest. Als Ergebnis (Tabelle 2) zeigte sich nur eine unwesentliche Hemmung des Wachstums sowohl in der Brom- als auch in der Thiouracillösung. Dies stimmt überein mit den Ergebnissen von MANIL und FOURNEAU (1955), die ebenfalls keine Wachstumshemmung von *Agrobacterium tumefaciens* nach Behandlung mit Thiouracil fanden. Auch ZAMENHOF und GRIBOFF (1954) sowie WEYGAND und WACKER (1952) fanden, daß Bromuracil das Wachstum von *Escherichia coli* nicht hemmt, während andere Mikroorganismen (WEYGAND u. Mitarb. 1951, 1952 u. a.) sehr stark gehemmt werden.

Tabelle 2

| | | Wachstum der Bakterien |
|---|---|---|
| Kontrolle . . . . . | | 100% |
| 5-Bromuracil | 100 $\gamma$/ml | 83% |
| | 200 $\gamma$/ml | 79% |
| 2-Thiouracil | 100 $\gamma$/ml | 105% |
| | 200 $\gamma$/ml | 81% |

Um zu prüfen, ob das Ausbleiben einer Hemmung auf der mangelnden Aufnahme dieser Substanzen durch die Bakterienzelle beruht, haben wir den Bakterien $^{14}$C-markiertes 5-Bromuracil in der angegebenen Weise zugeführt[1]. Nach 24 Std wurden die Bakterien abzentrifugiert und mehrmals mit Pufferlösung ($p_H$ 7,2) gewaschen und zum Schluß mit Pufferlösung plus inaktivem Bromuracil nachgewaschen. Unter dem Durchflußzählrohr bestimmten wir die Aktivität des Waschwassers und der getrockneten Bakterienmasse. Das Waschwasser enthielt keine Aktivität mehr, während sowohl in 100 als auch in 200 $\gamma$/cm$^3$ Bromuracil gewachsene Bakterien 270 Impulse/100 mg Bakterienmasse zeigte. Damit ist erwiesen, daß das Bromuracil in die Bakterienzelle aufgenommen wird, wobei allerdings noch nichts über die Art dieses Einbaus ausgesagt werden kann.

### *2. Virulenz vorbehandelter Bakterien*

In weiteren Versuchen prüften wir die Virulenz der mit 5-Bromuracil und 2-Thiouracil behandelten Bakterien. Es wird verschiedentlich angenommen (MANIGAULT u. Mitarb. 1956, MANIGAULT und STOLL 1958, vgl. dazu BRAUN und STONIER, Seite 50), daß das infektionsfähige Agens der Bakterien, das *Tumorinduzierende Prinzip* (TIP), eine DNS aus den Bakterien ist. Da nun bei verschiedenen Bakterien Bromuracil in die DNS eingebaut wird (WEYGAND u. Mitarb. 1951, 1952a, b), müßte durch diesen Einbau die Fähigkeit der Bakterien, Wurzelhalsgallen zu erzeugen, verändert werden. Wir infizierten *Kalanchoë*-Blätter mit

[1] Herrn Doz. Dr. HANS GRISEBACH danke ich für die Bromierung des markierten Uracils (vgl. WEYGAND, WACKER und GRISEBACH 1951).

Bakterien, die 24 Std in 100 bzw. 200 $\gamma$/cm³ Bromuracil und Thiouracil gewachsen waren. Die mit diesen Bakterien infizierten Pflanzen bildeten aber genau so viele Wurzelhalsgallen wie die Kontrolle, welche mit unbehandelten Bakterien beimpft worden waren (Tabelle 3). Auch in der Größe der Wurzelhalsgallen war kein gesicherter Unterschied wahrzunehmen. Es ist somit sehr wahrscheinlich, daß Bromuracil genau so wie Thiouracil (MANIL und FOURNEAU 1955) weder die Entwicklung

Tabelle 3. *Anzahl der Wurzelhalsgallen nach Infektion mit vorbehandelten Bakterien*

| Vorbehandlung der Bakterien | Anzahl der Infektionsstellen | Anzahl der Wurzelhalsgallen | Anzahl der Gallen in % der Infektionsstellen |
|---|---|---|---|
| Kontrolle . . . . . | 32 | 23 | 72 |
| 200 $\gamma$/cm³ Bromuracil | 36 | 27 | 80 |
| 200 $\gamma$/cm³ Thiouracil | 24 | 17 | 71 |

Tabelle 4

| | Zuwachs Blattpaare auf je 5 Pflanzen innerhalb 25 Tagen |
|---|---|
| Kontrolle | 6,5 |
| Thiouracil | 5 |
| Bromuracil | 6 |

von *Agrobacterium tumefaciens* wesentlich beeinflußt noch die Virulenz des Stammes 5.6 sichtbar verändert.

### 3. *Wirkung von 5-Bromuracil und 2-Thiouracil auf die Entwicklung von Kalanchoë daigremontiana*

Bevor es möglich ist, von einer spezifischen Wirkung der beiden Substanzen auf die Wurzelhalsgallen zu sprechen, muß deren Wirkung auf die normale Entwicklung der Pflanzen geprüft werden. Dabei konnten wir uns auf Entwicklungsstadien und Konzentrationen beschränken, wie sie in den Wurzelhalsgallenversuchen zur Anwendung kamen (vgl. dazu HESS 1959, HÖHN 1955).

*Kalanchoë*-Pflanzen wurden in je 100 cm³ Knop-Nährlösung gesetzt und der Nährlösung jeweils 20 $\gamma$/cm³ Brom- bzw. Thiouracil zugegeben. Wir verwendeten in zwei Serien Pflanzen mit und ohne Wurzeln. Sprosse ohne Wurzeln zeigten zunächst eine leichte Hemmung der Neuanlage von Wurzeln gegenüber der Kontrolle und damit verbunden eine Abnahme der Turgescenz. Diese Hemmung wurde aber bald überwunden, und die Pflanzen entwickelten sich normal weiter. Sprosse mit Wurzeln wiesen von Anfang an gegenüber der Kontrolle keine Veränderung auf.

Der Zuwachs von behandelten und unbehandelten Pflanzen, gemessen an neuentwickelten Blattpaaren, war nur wenig verschieden (Tabelle 4).

Während die mit Bromuracil behandelten Pflanzen auch nach längerer Kulturzeit keine Veränderung gegenüber der Kontrolle zeigten, wurden nach Thiouracilbehandlung die Blattränder neugebildeter Blätter allmählich schwarz und starben stellenweise ab.

Weiterhin untersuchten wir die Wundreaktion vorbehandelter Pflanzen. Dazu wurden 4 Wochen in der Versuchslösung gewachsene Pflanzen am Stengel durch Einschnitte verwundet und nach 5 Tagen die Zahl der aus einer Zelle durch Teilung hervorgegangenen Zellen entlang des Wundrandes ausgezählt. Folgende Zahlen wurden ermittelt:

| | Zellteilung pro Zelle |
|---|---|
| Bromuracil | $2{,}08 \pm 0{,}06$ |
| Nährlösung | $1{,}81 \pm 0{,}05$ |

Eine Hemmung der Wundreaktion durch das Bromuracil konnte also nicht beobachtet werden.

Aus allen Versuchen kann gefolgert werden, daß das 5-Bromuracil in den verwendeten Konzentrationen auf die Pflanze keinen sichtbaren Effekt ausübt, der in ihrer normalen Entwicklung oder Wundreaktion zum Ausdruck kommt. Dagegen wird durch Thiouracil wenigstens nach längerer Behandlung die Entwicklung der Pflanzen deutlich gestört.

*4. Die Wirkung von 5-Bromuracil und 2-Thiouracil auf die Wurzelhalsgallen*

**a) Nährlösungsversuche.** Nachdem aus den bisherigen Abschnitten hervorgeht, daß sich weder die Bakterien noch die *Kalanchoë*pflanzen durch eine Behandlung mit den genannten Substanzen merklich verändern, ist die Voraussetzung für eine Untersuchung der Wirkung auf die Wurzelhalsgallen selbst gegeben.

Wir kultivierten gut entwickelte Pflanzen von *Kalanchoë* ohne Wurzeln in Knopscher Nährlösung mit 20 $\gamma$/cm³ Brom- bzw. Thiouracil. Nach 7 Tagen wurden die Pflanzen an den Blättern verwundet und am nächsten Tage infiziert.

Tabelle 5

| Tage nach der Infektion | Anzahl „$n$" der Wurzelhalsgallen an Pflanzen in Nährlösung | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ohne Zusatz | | +20 $\gamma$/cm³ Bromuracil | | +20 $\gamma$/cm³ Thiouracil | |
| | $n$ | in % der Infektionsstellen | $n$ | in % der Infektionsstellen | $n$ | in % der Infektionsstellen |
| 15 | 23 | 57,5 | 5 | 12,5 | 3 | 7,5 |
| 21 | 32 | 80,0 | 6 | 15 | 8 | 20 |
| 27 | 37 | 92,5 | 7 | 17,5 | 8 | 20 |

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 5 zusammengestellt, wobei für jeden Versuch 40 Infektionsstellen Verwendung fanden.

Während also bei den Kontrollen 92,5% der möglichen Wurzelhalsgallen heranwuchsen, entstanden nach Bromuracilbehandlung nur 17,5%, nach Thiouracilbehandlung 20%, so daß in beiden Fällen die

Wurzelhalsgallen eindeutig gehemmt sind. Die wenigen gebildeten Gallen waren in beiden Fällen viel kleiner als bei der Kontrolle, eine Trockengewichtsbestimmung führten wir allerdings nicht aus.

Völlig vergleichbare Ergebnisse fanden sich, wenn die Sproßspitzen dekapitiert und der Stumpf der Sproßachse infiziert wurde, obwohl die Pflanzen in diesem Falle die Substanzen durch die *intakten* Wurzeln aufnahmen. Nach 3 Wochen hatten alle Kontrollpflanzen große, kräftig wachsende Gallen gebildet, die behandelten Pflanzen aber nur vereinzelt kleine.

Drei Wochen nach Versuchsbeginn ersetzten wir die Versuchslösung (mit den Pyrimidinbasen) durch reine Nährlösung, so daß die Pflanzen kein weiteres Bromuracil bzw. Thiouracil mehr erhielten. In der nun folgenden Zeit verhielten sich die beiden Versuchsgruppen verschieden. Nach 3 Wochen bildeten alle vorher mit Thiouracil behandelten Pflanzen Tumoren, bzw. die schon vorhandenen Wurzelhalsgallen entwickelten sich kräftig weiter. Dieses Ergebnis stimmt mit den entsprechenden von MANIL und FOURNEAU (1955) überein. Die mit Bromuracil behandelten Pflanzen veränderten sich im Gegensatz dazu nicht; die Pflanzen ohne Gallen blieben auch weiterhin ohne solche, die bereits vorhandenen kleinen Gallen wuchsen nur schwach weiter.

Dieses unterschiedliche Versuchsergebnis deutet darauf hin, daß es sich bei der Wirkung der beiden Substanzen auf die Tumorbildung um zwei verschiedene Reaktionsweisen handelt. Die Wirkung des Thiouracils kann, entsprechend den Beobachtungen von MANIL und FOURNEAU (1955), als eine *direkte* Wachstumshemmung dieser Pyrimidinbase auf das transformierte Wurzelhalsgallengewebe angesehen werden, die ihre Aktion zu jedem Zeitpunkt des Gallenwachstums ausübt, und zwar nur so lange, wie sie selbst vorhanden ist. Dagegen ist die Wirkung des 5-Bromuracils als eine unmittelbare Unterdrückung der TIP-Bildung aufzufassen, so daß die Zellen überhaupt nicht transformiert sind. Die folgenden Beobachtungen werden diese Annahme noch weiter stützen.

**b) Zeitliche Abhängigkeit der 5-Bromuracil- und 2-Thiouracilwirkung.** Aus den Untersuchungen von BRAUN (1947) an *Vinca rosea* geht hervor, daß die kritische Temperatur von 32° C nur innerhalb der ersten 4 Tage das Wachstum der Gallen und damit die Bildung des tumorinduzierenden Prinzips hemmt; danach ist die Temperaturbehandlung wirkungslos. Innerhalb dieser ersten Zeit müßte also das TIP entstehen. Falls die verwendeten Pyrimidinbasen einen Einfluß auf diese Entstehung haben, müßte dieser darum ebenfalls eine derartige zeitliche Abhängigkeit aufweisen.

Um diese Frage zu prüfen, wurden die Pflanzen an den Blättern verwundet, 24 Std später infiziert und die Lösung mit der entsprechenden Pyrimidinbase auf die Infektionstelle aufgetropft. Zunächst unter-

suchten wir die quantitative Wirkung bei dieser Versuchsanstellung, indem wir einmal am ersten Tag nach der Infektion oder zweimal an den ersten zwei aufeinanderfolgenden Tagen jeweils 0,1 cm³ Lösung auftropften. Tabelle 6 gibt die Versuchsergebnisse 25 Tage nach der Infektion.

Tabelle 6. *Zahl der gebildeten Gallen in % der Infektionsstellen*

| | Behandlung mit | | Kontrolle |
|---|---|---|---|
| | Thiouracil | Bromuracil | |
| | | | 82 |
| 1mal 20 γ | 40 | 60 | |
| 2mal 20 γ | 12[1] | 30 | |

[1] Durch die zweimalige Behandlung waren die Blätter so stark geschädigt, daß große Partien völlig abgestorben waren.

Die Hemmung ist bei beiden Substanzen also ungefähr proportional der aufgetropften Substanzmenge. Es ist jedoch nicht möglich, die größere Menge auf einmal aufzutragen, weil zu starke Schädigungen am Blatt auftreten. Wir konnten darum nur die geringen Konzentrationen verwenden. Außerdem mußten wir uns aber auch auf *eine* Behandlungszeit beschränken, weil nur dadurch eine genaue zeitliche Präzisierung des Einflusses der Substanzen möglich ist.

Die Behandlung wurde zur Zeit der Infektion bzw. genau 24, 48 usw. Std danach durchgeführt. Die Versuchsergebnisse sind trotz gewisser Schwankungen in mehreren Wiederholungen gut reproduzierbar. Die Tabelle 7 enthält die aus einem Versuch für je 80 Infektionsstellen pro Behandlungszeit erhaltenen Werte.

Tabelle 7. *Kalanchoë daigremontiana mit Agrobacterium tumefaciens 5.6 infiziert und zu verschiedener Zeit nach der Infektion mit Bromuracil behandelt*

| Tage nach der Infektion behandelt | Anzahl der Gallen | In % der Infektionsstellen | $\chi^2$ | Trockengewicht/Galle mg |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 14 | 17,5 | 0,5 | 1,5 |
| 1 | 7 | 8,7 | 0 | 1,4 |
| 3 | 7 | 8,7 | *10,5* | 1,9 |
| 5 | 23 | 29,8 | 0,18 | 2,8 |
| 8 | 26 | 32,6 | 3,6 | — |
| Kontrolle (unbehandelt) | 41 | 51,4 | | 4,3 |

Die Berechnung des $\chi^2$ zeigt, daß die Gallen, die zur Zeit der Infektion oder am ersten bis dritten Tag nach der Infektion behandelt wurden, deutlich gehemmt sind, während zwischen dem dritten und fünften Tage eine gesicherte Differenz vorhanden ist, die zwischen dem 5. und 8. Tag und der Kontrolle fehlt. Die Behandlung am 5. Tag und später hat also nur noch einen unwesentlichen Einfluß auf die Anzahl und auf die Größe der entstandenen Tumoren.

Die wenigen nach Bromuracilbehandlung in den ersten drei Tagen entstandenen Gallen sind auch durchweg kleiner als die Kontrolle. In einigen Fällen nahm die Wurzelhalsgallenzahl nachträglich zu. Aber auch dann blieben die Tumore der bromuracilbehandelten Pflanzen

stets kleiner als die der nichtbehandelten. Außerdem fanden sich nach 3 Tagen mehr Gallen als nach 0, 1 oder 2 Tagen, wie aus Tabelle 8 hervorgeht, in der die Auswertung eines Versuches nach einem Monat für je 40 Infektionsstellen pro Behandlungszeit aufgeführt ist.

Tabelle 8. *Kalanchoë daigremontiana nach der Infektion mit Bromuracil behandelt* Gallenbildung nach einem Monat.

| Tage nach der Infektion behandelt | Anzahl der Gallen nach 30 Tagen | In % der Infektionsstellen | Trockengewicht/Galle mg |
|---|---|---|---|
| 0 | 11 | 27,5 | 2,0 |
| 1 | 12 | 30,0 | 1,75 |
| 2 | 10 | 25,0 | 2,0 |
| 3 | 17 | 42,5 | 1,5 |
| Kontrolle | 24 | 60,0 | 4,1 |

Das Bromuracil übt also eine Wirkung auf die Wurzelhalsgallen bei *Kalanchoë* im gleichen Zeitraum aus, in dem die kritische Temperatur von 32° C bei *Vinca rosea* einen Effekt hat. Da die ersten makroskopisch sichtbaren Wurzelhalsgallen bei *Kalanchoë* frühestens 14 Tage nach der Infektion erscheinen, hört also die Wirkung des Bromuracils bereits lange vor dem Sichtbarwerden der Gallen auf.

Von dieser Wirkung des Bromuracils unterscheidet sich die des Thiouracils auch im Zeitversuch deutlich. Das Thiouracil wirkt nämlich auch nach mehr als 5 Tagen noch hemmend auf die Wurzelhalsgallen (Tabelle 9).

Tabelle 9. *Einfluß von Thiouracilbehandlung auf die Entwicklung von Wurzelhalsgallen für je 40 Infektionsstellen pro Versuchsgruppe*

| Tage nach der Infektion behandelt | Anzahl der Gallen | In % der Infektionsstellen | $\chi^2$ | Trockengewicht/Galle mg |
|---|---|---|---|---|
| 1. Tag | 4 | 10 | 0,2[1] | 2,0 |
| 3. Tag | 2 | 5 | 2,9[1] | 1,6 |
| 5. Tag | 8 | 20 | 0,8 | 2,1 |
| 8. Tag | 5 | 12,5 | 15,0 | 1,4 |
| Kontrolle | 18 | 45 | | 4,3 |

[1] Mit YATES' Korrektur.

Die Differenzen sind nur zwischen behandelten und nichtbehandelten Pflanzen gesichert, sonst nicht.

Es läßt sich also zusammenfassen, daß das Thiouracil nicht unmittelbar in die während der Bildung des TIP ablaufenden Vorgänge eingreift, sondern an anderen Stellen wirksam wird. Das Bromuracil wirkt dagegen innerhalb der Zeit, in der das TIP gebildet wird, unterdrückt also diese Bildung selbst.

## Diskussion

Wenn wir unsere Ergebnisse zusammenfassend betrachten, so deuten sie auf eine spezifische Wirkung des 5-Bromuracils hin, besonders deshalb, weil es in derselben Zeit wirksam ist, in der auch erhöhte Temperaturen die Bildung des TIP verhindern (BRAUN 1947, Zusammen-

fassung bei Braun und Stonier 1958). Bekanntlich wird das Bromuracil in den verschiedensten Organismen und Zellen an Stelle von Thymin in die DNS eingebaut (vgl. u. a. Bardos, Segeloff und Ambus 1959, Weygand, Wacker und Dellweg 1952), wodurch die weitere DNS-Synthese blockiert wird. Es ist daher anzunehmen, daß sich die Wirkung des Bromuracils auch bei den Wurzelhalsgallen auf die DNS-Synthese erstreckt. Der endgültige Beweis für den Einbau des Bromuracils in die DNS während der Tumorinduktion steht allerdings noch aus. Ein solcher Einbau liegt aber nahe, da durch Hess (1959) nachgewiesen wurde, daß das Thiouracil bei höheren Pflanzen in genau derselben Weise eingebaut wird wie bei Bakterien und Viren.

Trotzdem ist eine weitere Prüfung dieser Frage unerläßlich, denn es läßt sich auch annehmen (Stonier, mündl. Mitt.), daß die Verwundung, ohne die keine Transformation zum Tumor stattfinden kann (Stapp 1953), eine Permeabilitätsänderung in den wundnahen Zellen hervorruft und daß das Bromuracil nur so lange wirksam ist, wie diese Permeabilitätsveränderung sein Eindringen in die Zelle gestattet; wenn es in die Zelle eingedrungen ist, könnte es dann eine unspezifische Wirkung ausüben. Die Parallelität zu den Versuchen von Braun (1947), Segretain (1949) u. a. würde darauf zurückzuführen sein, daß auch dort für die Wirksamkeit der Bakterien eine zeitlich begrenzte Permeabilitätsänderung der verwundeten Zellen verantwortlich ist.

Die Versuche, bei denen das Bromuracil durch die Wurzeln zugeführt wurde, sprechen allerdings gegen die Annahme, daß eine Permeabilitätsänderung der entscheidende Faktor für die Bromuracilwirkung ist. Ein direkter Eingriff in die DNS-Synthese ist bei dieser Versuchsanordnung das wahrscheinlichste. Weitere Versuche, diese Frage zu klären, sind im Gange.

Wir können aus unseren Versuchen bis jetzt folgendes schließen: Zunächst üben die Bakterien einen Stimulus aus, dessen Natur trotz verschiedener Ansätze als noch ungeklärt angesehen werden muß (Manigault und Stoll 1958a, b, 1959, Thomas und Klein 1959), der aber nach unseren Ergebnissen mit großer Wahrscheinlichkeit nicht durch DNS aus den Bakterien ausgelöst wird. Auf diesen Stimulus hin beginnen die Wirtszellen selbst mit der Synthese einer veränderten DNS als Grundlage der Tumorbildung. Steht in den ersten 3—4 Tagen nach der Infektion, in der diese Synthese stattfinden muß, neben der normalen DNS-Bausteine auch noch Bromuracil zur Verfügung, so kann diese Synthese nicht ungestört ablaufen. Die normalen DNS-Bausteine synthetisiert die Pflanze selbst. Für den Bedarf regulärer Entwicklung sind sie in solcher Menge vorhanden, daß sich daneben das zugeführte Bromuracil nicht hemmend auswirken kann. Mit der Infektion der Tumoren durch die Bakterien setzt dagegen ein plötzlicher starker

Bedarf ein. So hat KLEIN (1953) 24 Std nach der Infektion mit virulenten Bakterien einen schlagartigen Anstieg der DNS-Menge nachgewiesen; allerdings sind quantitative DNS-Bestimmungen in dieser Größenordnung nur mit großen Vorbehalten möglich. Bei einem solchen verstärkten Bedarf und einem wahrscheinlich sehr empfindlichen System kann sich dagegen das Bromuracil so auswirken, daß es zu gar keiner oder einer nur geringen Neusynthese und damit entweder zu überhaupt keiner oder nur einer schwachen Transformierung kommt.

Dafür, daß in einer bestimmten Teilphase der Tumorinduktion die Neusynthese einer spezifischen DNS als Grundlage der Zelltransformation eine Rolle spielt, spricht auch, daß nach THOMAS und KLEIN (1959) das 5-Methylcytosin bei der Bildung des TIP beteiligt ist und weiterhin, daß in eigenen Versuchen das Tumorwachstum durch Thymin gefördert wurde (BOPP unveröff.).

Die Versuche von BRAUN (1958), daß langsam wachsende, während 34 bis 36 Std transformierte Gallen durch Zugabe der Nucleotide Cytidyl- und Guanylsäure im Wachstum gefördert werden, und die Versuche von KLEIN (1957), nach denen die Nucleoside Guanosin und Adenosin das Wurzelhalsgallenwachstum stimulieren, sprechen ebenfalls für einen starken Bedarf an NS-Bausteinen bei solchen unvollständig transformierten Zellen. Diese könnten möglicherweise bei denjenigen Vorgängen fördernd wirken, in die das Thiouracil eingreift, wenn es das Wurzelhalsgallenwachstum hemmt.

Wir können somit zusammenfassend folgern, daß das in die DNS-Synthese eingreifende Bromuracil spezifisch bei der Bildung des TIP wirkt, während das in die RNS-Synthese eingreifende Thiouracil in das Tumorwachstum selbst, nicht aber in die ersten Schritte der eigentlichen Transformierung eingreift.

Eine ausführliche Diskussion soll einer späteren Arbeit vorbehalten bleiben.

**Summary**

The effect of 5-bromouracil and 2-thiouracil on *Agrobacterium tumefaciens*, on *Kalanchoe daigremontiana* and on the crown galls formed on *Kalanchoe* under the influence of *Agrobacterium* has been investigated and the following observations have been made.

1. 100 to 200 $\gamma$/cm$^3$ of bromo- or thiouracil scarcely inhibit the growth of the bacteria, although the substances are taken up by the bacteria.

2. By a concentration of 20 $\gamma$/cm$^3$ of bromouracil *Kalanchoe daigremontiana* is neither affected in its wound reaction nor in its development. Thiouracil disturbs the development of the lamina after longer periods of action.

3. The formation of crown galls is inhibited by both bromo- and thio-uracil, the extent of inhibition being dependent on the concentration. Time experiments showed that bromouracil is effective only within the first 3 days after the infection, whereas thiouracil inhibits the growth of the tumors during their entire development.

4. Bromouracil inhibits the tumor cells during the same time as do higher temperatures. It seems probable that pyrimidine and an increase in temperature interfere with the same processes during the transformation of the cells.

5. Since it has been shown by numerous investigators that bromouracil is incorporated into DNA, the experiments indicate that the transformation to tumor cells is connected with an increased new formation of a specific DNA.

Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt. Ebenso bin ich der Freiburger Wissenschaftlichen Gesellschaft für zwei Reisestipendien zu großem Dank verpflichtet. Herrn Professor Dr. P. Manigault, Paris, danke ich für die Einführung in die Versuchstechnik, Fräulein G. Wächter für die Hilfe bei den Versuchen.

## Literatur

Bardos, I. Th., A. Segeloff and I. C. Ambus: Antitumour-activity of 5-Mercaptouracil. Nature (Lond.) **183**, 612—613 (1959). — Bender, E., u. W. Brucker: Weitere Versuche zur zellfreien Tumorerzeugung an Pflanzen. III. Z. Bot. **47**, 258—271 (1959). — Braun, A. C.: Thermal studies on the factors responsible for tumor initiation in crown-gall. Amer. J. Bot. **34**, 234—240 (1947). — A physiological basis for autonomous growth of the crown-gall tumor cell. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **44**, 344—349 (1958). — Braun, A. C., and T. Stonier: Morphology and physiology of plant tumors. Protoplasmatologia, Bd. 10/5a. Wien 1958. — Hamers, R.: Incorporation of $^{35}$S-thiouracil in *Bacillus megatherium*. Biochem. biophys. Acta **21**, 170—171 (1956). — Hess, D.: Die selektive Blockierung eines an der Blühinduktion beteiligten Ribosenucleinsäureeiweiß-Systems durch 2-Thiouracil. Planta (Berl.) **54**, 74—94 (1959). — Höhn, K.: Zur Frage der Bedeutung der Nukleinsäuren für die Wachstumsvorgänge der Pflanzen. Biol. Pflanz. **31**, 261—292 (1955). — Klein, R. M.: The probable chemical nature of crown-gall tumorinducing principle. Amer. J. Bot **40**, 597—599 (1953). — The activation of metabolic systems during crowngall tumor-cell formation. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **43**, 956—960 (1957). — Klein, R. M., and I. L. Knupp: Sterile induction of crown-gall tumors on carrot tissues in vitro. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **43**, 199—203 (1957). — Klein, R. M., and G. K. K. Link: The etiology of crown-gall. Quart. Rev. Biol. **30**, 207—277 (1955). — Manigault, P., A. Comandon et P. Slizewicz: Préparation d'un „principe inducteur" de la tumeur de *Pelargonium*. Ann. Inst. Pasteur **91**, 114—117 (1956). — Manigault, P., P. Schaeffer et Ch. Stoll: Etude du principe inducteur des tumeurs végétales (crown-gall). Proc. IX. Internat. Bot. Congr. **2**, 249 (1959). — Manigault, P., et Ch. Stoll: Induction aseptique d'une tumeur végétale (crown-gall). Ann. Inst. Pasteur **95**, 793—795 (1958). — The role of nucleic acids in crown-gall tumor induction. Experientia (Basel) **14**, 409 (1958). — Manil, P., et I. Fourneau: Action du thiouracil et de l'uracile sur le crown-gall. Bull. Inst. agronom. Stat.

Rech. Gembloux **23**, 55—65 (1955). — Secretain, G.: Rôle de la plaie d'inoculation dans le développement des tumeurs à *Agrobacterium tumefaciens*. C. R. Acad. Sci. (Paris) **228**, 1452—1453 (1949). — Stapp, C.: Der derzeitige Stand unserer Kenntnisse über pflanzliche Tumoren. Zbl. Bakt., II. Abt. **107**, 172—189 (1953). — Stapp, C.: Pflanzenpathogene Bakterien. Berlin 1958. — Thomas, A. I., and R. M. Klein: In vitro synthesis of the crown-gall tumour-inducing principle. Nature (Lond.) **183**, 113 (1959). — Weygand, F., A. Wacker u. H. Grisebach: Stoffwechseluntersuchungen bei Mikroorganismen mit Hilfe radioaktiver Isotope. I. Z. Naturforsch. **6b**, 177—178 (1951). — Weygand, F., A. Wacker u. H. Dellweg: Stoffwechseluntersuchungen bei Mikroorganismen mit Hilfe radioaktiver Isotope II. Z. Naturforsch. **7b**, 19—25 (1952a). — Weygand, F., u. A. Wacker: Stoffwechseluntersuchungen bei Mikroorganismen mit Hilfe radioaktiver Isotope. III. Z. Naturforsch. **7b**, 26—28 (1952b). — Zamenhof, S., and G. Griboff: *Escherichia coli* containing 5-Bromuracil in its deoxyribonucleic acid. Nature (Lond.) **174**, 307—308 (1954).

Dozent Dr. M. Bopp,
Botanisches Institut der Universität, Freiburg. i. Br., Schänzlestraße 9

Planta 54, 233—264 (1960)

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen

# ÜBER DEN EINFLUSS DER TEMPERATUR AUF DIE ENDOGENE TAGESRHYTHMIK UND DIE BLÜHINDUKTION BEI DER KURZTAGPFLANZE *KALANCHOË BLOSSFELDIANA* *

Von

OTTO OLTMANNS

Mit 16 Textabbildungen

*(Eingegangen am 7. Oktober 1959)*

Die Crassulacee *Kalanchoë blossfeldiana* gehört zu den Kurztagpflanzen, deren photoperiodisches Verhalten gut bekannt ist (Literatur bei HARDER 1946, 1948, MELCHERS 1956). Die Kronblätter ihrer Blüten führen endogen-tagesrhythmische Öffnungs- und Schließbewegungen aus (HARDER 1949, BÜNSOW 1953a). Zwischen der photoperiodischen Reaktion und dem durch die Blütenblattbewegungen angezeigten Verlauf der endogenen Tagesrhythmik (eTR) ließen sich Beziehungen nachweisen (BÜNSOW 1953a, b, SCHWEMMLE 1957): Licht wirkte in großen Zügen *fördernd* auf die Blütenbildung vegetativer Pflanzen in denjenigen Tageszeiten, in denen die Blüten bei blühenden Exemplaren geöffnet sind [„photophile Phase" im Sinne BÜNNINGS (BÜNNING 1944, 1950, 1956 1958)], und *hemmend* zu den Tageszeiten, in denen die Blüten geschlossen sind („skotophile Phase"). Die Kurve der Blütenbewegung stimmte jedoch nicht in jedem Falle mit dem rhythmischen Wechsel der photoperiodischen Wirkung des Lichtes überein (BÜNSOW 1953a); es erhob sich daher die Frage, ob sich weitere Aufschlüsse über den Zusammenhang zwischen endogener Tagesrhythmik und Blühreaktion von *Kalanchoë* durch eine Untersuchung des Temperatureinflusses gewinnen ließen.

Die Temperaturanalyse der eTR, die dazu nötig war, konnte dabei gleichzeitig zu einem Vergleich mit den entsprechenden Untersuchungen an anderen Objekten, insbesondere den zahlreichen Ergebnissen an *Phaseolus*, benutzt werden und überdies die Grundlage für den Versuch erweitern, die thermoperiodischen Reaktionen (vgl. zum Thermoperiodismus WENT 1953) mit der eTR in Verbindung zu bringen.

Die Temperaturabhängigkeit der endogenen Tagesrhythmik ist an anderen Objekten bereits mehrfach untersucht worden. Einige Arbeiten hatten das Verhalten der Rhythmik bei extremen Temperaturen und in Temperaturwechseln zum Gegenstand, die weitaus meisten aber befaßten sich mit dem Einfluß der Temperatur auf die Periodenlänge. Diese wird unter konstanten Lichtverhältnissen, d. h. im Dauer-

* Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Göttingen.

licht oder Dauerdunkel, durch die Temperatur meist nur wenig, aber *unterschiedlich* beeinflußt.

So fand z. B. BÜNNING (1932) für die tagesperiodische Blattbewegungen von *Phaseolus* eine schwache Temperaturabhängigkeit der Periodenlänge ($Q_{10}$ = 1,2), während UEBELMESSER (1954) für die Sporangienabschußrhythmik von *Pilobolus* keine Temperaturabhängigkeit zwischen 20, 22 und 25° ermitteln konnte, und auch BALL und DYKE (1954) vermochten bei der Wachstumsrhythmik von *Avena*koleoptilen keinen Unterschied in der Periodenlänge bei 16 und 28° festzustellen. KALMUS (1934), der das Zeitgedächtnis (die „innere Uhr") der Bienen untersuchte, führte die Temperaturunabhängigkeit der Rhythmik auf Kompensationsprozesse zurück, und LEINWEBER (1956) verfolgte diese Prozesse an den Bewegungen der Primärblätter von *Phaseolus multiflorus*. Hier zeigte sich, daß die Periodenlänge nach Übertragung der Pflanzen in tiefe Temperatur (15°) zuerst vergrößert wird, sich dann aber wieder verkürzt, so daß schließlich die anfängliche Verzögerung wieder aufgeholt wird. Die Verlängerung der ersten Periode nach Übertragung in tiefe Temperatur kann bei *Phaseolus* unter Umständen auch unterbleiben, der Kompensationsprozeß aber trotzdem eingeschaltet werden, so daß eine Verkürzung der Periodenlänge bei tiefen Temperaturen gegenüber höheren eintritt (BÜNNING und TAZAWA 1957). Eine solche „negative Temperaturabhängigkeit" fand auch BÜHNEMANN (1955) für die Sporulationsrhythmik von *Oedogonium*.

Für *Kalanchoë* stehen bisher derartige Temperaturuntersuchungen noch aus; sie sind aber schon deswegen von Interesse, weil möglicherweise Blütenblätter anders auf Temperatureinflüsse reagieren könnten als z. B. Laubblätter (vgl. BÜNNING 1959, S. 650).

Die Temperaturabhängigkeit der *Blütenbildung* von *Kalanchoë* wurde eingehender nur von RÜNGER (1956 u. 1958a, b) an der Sorte „Tom Thumb" untersucht, die im Gartenbau verwendet wird. Da aber über die sonstige Reaktionsweise dieser Sorte wenig bekannt ist, eine Übertragung der Befunde auf die Göttinger *Kalanchoë* also nicht möglich ist, mußten eigene Versuche angesetzt werden. Für die nachstehend geschilderten Untersuchungen wurde der seit über 20 Jahren in Göttingen gebräuchliche Stamm von *Kalanchoë blossfeldiana* verwandt.

## A. Methodik

### 1. *Blütenblattbewegungsversuche*

Für die Blütenblattbewegungsversuche wurden im Gewächshaus aufgezogene, durch ständiges Ausbrechen der Seitentriebe unverzweigt gehaltene Pflanzen verwendet. Sie wurden nach Bedarf durch 2—3wöchige Kurztagbehandlung (9 Std-Tag) zur maximalen Blütenbildung veranlaßt und etwa 3 Monate danach in den Versuch genommen. Sie standen dann in voller Blüte, aber an jedem Wickel (die dichasialen Blütenstände von *Kalanchoë* endigen in Wickeln) befanden sich die obersten Blüten noch im Knospenstadium. Für die Versuche wurden immer junge, gerade aufgeblühte Blüten ausgewählt, die etwa eine Woche lang Öffnungs- und Schließbewegungen ausführen, bevor sie verwelken und durch die nächst jüngeren Blüten des Blüsenstandes abgelöst werden. Diese gehen dann ihrerseits zu Bewegungen über.

Die Untersuchung der Blütenblattbewegungen erfolgte nach der Methode von BÜNSOW (1953a): An zwei einander gegenüberliegende Kronblattzipfel wurden zur

Verlängerung 0,06 mm starke und 30 mm lange Kupferlackdrähte mit Gummi arabicum geklebt („Benadelung der Blüten", Abb. 1). Die Drähte standen im Winkel von 135° vom Blütenblatt ab. Gemessen wurden die Abstände der Drahtspitzen voneinander in Millimetern. Bei geschlossenen Blüten kreuzten sich die Drähte, die Meßwerte erhielten dann negative Vorzeichen; bei etwa halb geöffneten Blüten hatten die Drahtspitzen den Abstand Null (Null-Linie in den folgenden Kurvenbildern); die Meßwerte von geöffneten Blüten wurden mit positivem Vorzeichen versehen.

Die Öffnungsweiten der Blüten wurden in den Dunkelzeiten bei abgeblendetem Taschenlampenlicht abgelesen. Dabei traf Licht von etwa 20 Lux einige Sekunden lang den Blütenstand jeder Pflanze. Störungen der Blütenblattbewegungen hierdurch konnten nicht festgestellt werden.

In jeder Versuchsgruppe wurden gewöhnlich an 3—4 Pflanzen insgesamt 5—8 Blüten gleichzeitig untersucht. Wenn nicht anders angegeben, geben die folgenden Kurvenbilder Beispiele der Bewegungen von Einzelblüten wieder.

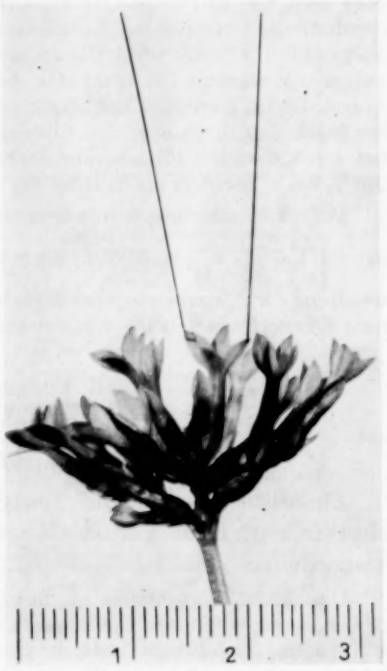



Abb. 1. Benadelte Blüte in einem Teilblütenstand von *Kalanchoë blossfeldiana*. Der Winkel von 135°, den Nadel und Blütenblatt miteinander bilden, ist wegen der seitlichen Ansicht nicht zu erkennen

### 2. *Versuche zur Induktion der Blütenbildung*

Die Induktionsversuche wurden mit vegetativen [1], unverzweigt gehaltenen Pflanzen angestellt, die je nach Versuch 5—10 Monate alt und 10—20 cm groß waren und 8—14 Blattpaare hatten. Sie standen, wenn nicht anders angegeben, 15 Tage unter den Versuchsbedingungen zur Blühinduktion (Kurztag) und kamen anschließend wieder zur Nachkultur zurück in das Langtag-Gewächshaus. Als Maß für die Stärke der Blühinduktion diente die Anzahl der Tage bis zum ersten Sichtbarwerden der Blütenstandsanlagen und die Anzahl der Blüten. Für jede „vegetative Inflorescenz" (Dichasium ohne Blüten), deren Auftreten das Anzeichen eines geringen Blühimpulses ist (Harder, v. Witsch und Bode 1942), wurde als „Blütenzahl" der Wert 0,5 eingesetzt.

### 3. *Allgemeine Versuchsbedingungen*

Alle Versuche wurden in Klimakammern und Temperaturkonstanzräumen durchgeführt, in denen die Luft unter Zusatz von 15% Frischluft ständig umgewälzt wurde. Die Temperatur schwankte um den jeweils angegebenen Mittelwert um $\pm$ 0,2 bis 0,5° C [2], die Luftfeuchtigkeit, die nur in den Klimakammern geregelt

[1] Blütenbildung wurde durch Störlicht (Harder und Bode 1943), das nachts von $0^{00}$—$2^{00}$ gegeben wurde, verhindert.

[2] Gelegentliche unperiodische Temperaturschwankungen von wenigen Graden, die auf Grund von technischen Störungen auftraten, konnten leider nicht vermieden werden.

werden konnte, um ± 5%. Sie betrug meistens 55—75%[1]; bei hohen Versuchstemperaturen war sie gewöhnlich etwas geringer als bei niedrigen (z. B. 45—50% bei 35°, 60% bei 30°, 70% bei 15°). In Kontrollversuchen konnte ein Einfluß der Luftfeuchtigkeit auf die Versuchsergebnisse nicht festgestellt werden.

Zur Beleuchtung dienten entweder in den Versuchsräumen angebrachte 40-W-Osram-Leuchtstoffröhren HNW 202 und HNI 202 de Luxe im Verhältnis 1:1 oder acht 400 W-Philips-Quecksilberdampfhochdruckleuchtstofflampen HPL, die oberhalb der betreffenden Klimakammer über einem in der Decke angebrachten horizontalen Fenster (drei Glasscheiben mit zwei evakuierten Zwischenräumen) aufgehängt waren. Die Intensität wurde mit einem Luxmeter der Firma Dr. B. Lange, Berlin, gemessen, bei vegetativen Pflanzen in Höhe des Vegetationspunktes, bei blühenden dicht über den Blütenständen. Wenn nicht anders angegeben, war bei den blühenden Pflanzen die Lichtintensität in Höhe der obersten Blattpaare um $^1/_2$ bis $^1/_3$ geringer als in Höhe der Blütenstände.

Bei der Auswertung wurde der mittlere Fehler der Mittelwerte nach der Formel $m = \sqrt{\frac{\Sigma (\Delta x)^2}{n \cdot (n-1)}}$ berechnet; darin bedeutet $n$ = Zahl der Einzelwerte, $\Delta x$ = Abweichung der Einzelwerte vom Mittelwert. Die statistische Sicherung wurde nach dem $t$-Test (PÄTAU 1943) vorgenommen.

## B. Versuchsergebnisse

### I. Blütenblattbewegungen

#### *1a. Im Dauerdunkel bei konstanter Temperatur*

Zunächst wurden die Temperaturgrenzen der endogenen Tagesrhythmik und die Periodenlänge bei verschiedenen Temperaturen im Dauerdunkel ermittelt.

Um gleiche Vorbedingungen für alle Versuche herzustellen, wurden die blühenden Pflanzen aus dem Gewächshaus in eine Klimakammer gebracht und dort 6 Tage lang bei 17° im Dunkeln gehalten. Danach bekamen sie bei 23° 6 Std Licht von Quecksilberdampflampen (14000—15000 Lux in Höhe der Blütenstände, 12000—13000 in Höhe der obersten Blattpaare). Durch das Starklicht sollten die nach 6 Tagen Dunkelheit schwächer werdenden Blütenblattbewegungen wieder verstärkt werden. Während der Lichtzeit wurden die Blüten benadelt. Nach Lichtschluß kamen die Pflanzen in Klimakammern, wo die Bewegungen ihrer Blütenblätter im Dauerdunkel bei verschiedenen Temperaturen verfolgt wurden.

In der Abb. 2 sind Bewegungskurven von Einzelblüten im Dauerdunkel bei 11, 13, 15, 20, 25 und 30° abgebildet. Sie zeigen, daß die Blütenblätter unter den gegebenen Versuchsbedingungen nur im Bereich von etwa 13—30° periodische Bewegungen (Nachschwingungen) ausführten; bei 11° wurde nur eine Schwingung vollendet. Die tagesperiodische Bewegung ging also bei tiefen Temperaturen nicht in „Kurzschwingungen" über, wie BÜNNING und TAZAWA (1957) sie für die Bewegungen der *Phaseolus*-Blätter nachgewiesen haben. Am besten ausgeprägt war die Blütenblattbewegung bei 15, 20 und 25°, weniger gut bei 13 und 30°.

[1] Bei relativen Feuchtigkeiten über 85% lösten sich die Drähte von den Blütenblättern.

Die Lage der Kurvenminima (= Zeitabschnitte der geringsten Blütenöffnung), die sich meist leichter bestimmen läßt als die der Kurvenmaxima (= Zeitabschnitte der größten Blütenöffnung) ist in Abb. 3 angegeben, die Länge der einzelnen Perioden, gemessen von Minimum zu Minimum, in Tabelle 1, statistische Sicherung in Tabelle 2. Es sind Mittelwerte aus allen angestellten Versuchen angeführt, und

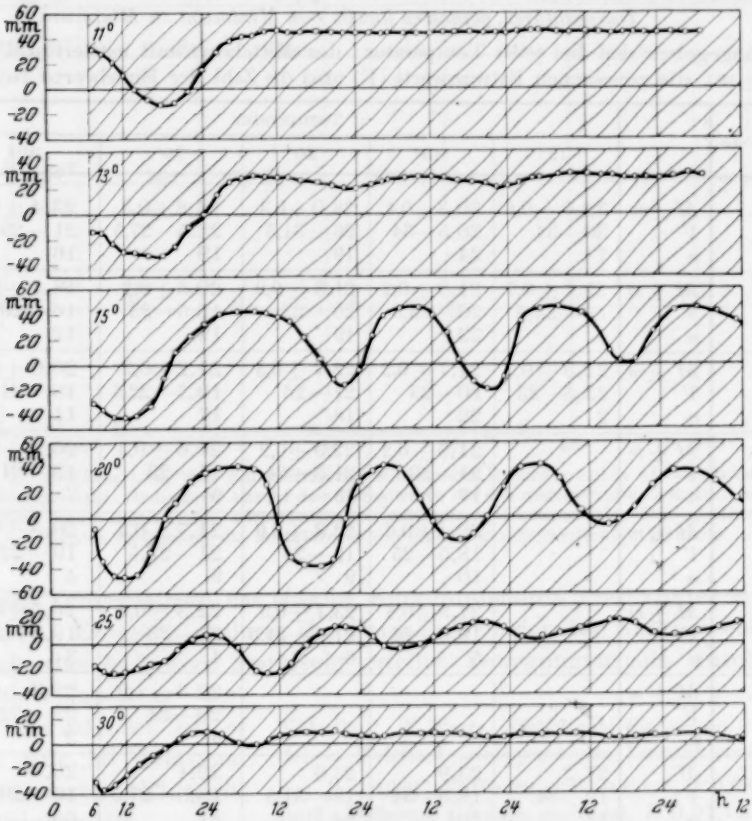



Abb. 2. Beispiele für Blütenblattbewegungen im Dauerdunkel bei verschiedenen Temperaturen (11—30°). Temperatur während der vorhergehenden 6stündigen Lichtperiode 23°. Hier wie in allen folgenden Bewegungskurven: Ordinate = Abstände der Drahtspitzen in Millimetern (s. Methodik), Abszisse = Zeit. Dunkelzeiten schraffiert

zwar waren es bei 13° die Werte aus einem Versuch (7 Blüten), bei 15° aus 4 Versuchen (24 Blüten), bei 20, 25 und 30° aus je 3 Versuchen (19, 19 und 16 Blüten).

Aus den in Tabelle 1 und Abb. 3 zusammengestellten Werten ergibt sich: In der ersten Periode nahm die Periodenlänge mit zunehmender Temperatur relativ stark ab [$Q_{10}$ = 1,2 (20/30°) bzw. 1,24 (15/25°)], in der 2.—7. Periode weniger stark [$Q_{10}$ = 1,13 (20/30°)]. Bei 15° wurden in der 2.—7. Periode die Periodenlängen so stark verkürzt, daß sie im Mittel kürzer waren als bei 20°; die Differenz ist allerdings mit $P$ = 0,04

statistisch nicht gesichert. Der Temperaturkoeffizient betrug zwischen 15 und 25° in der 2.—7. Periode nur noch 1,03! Abb. 3 zeigt besonders deutlich, daß die anfängliche Verzögerung im Eintreten der Öffnungs-

Tabelle 1. *Periodenlängen der Blütenblattbewegung in Stunden bei verschiedenen Temperaturen, gemessen jeweils von Minimum zu Minimum*

Angegeben sind bei jeder Temperatur: der Mittelwert mit mittlerem Fehler ($M \pm m$), die gemessenen Extremwerte ($V$) und die Zahl der Einzelwerte ($n$).

| Periode | | Temperatur | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 13° | 15° | 20° | 25° | 30° |
| 1. | $M \pm m$ | 32,0 ± 0,6 | 30,3 ± 0,4 | 28,0 ± 0,3 | 24,8 ± 0,3 | 23,4 ± 0,4 |
| | $V$ | 30—34 | 26,5—34 | 26—31,5 | 22,5—27,5 | 21—29 |
| | $n$ | 7 | 24 | 19 | 19 | 16 |
| 2. | $M \pm m$ | 21,1 ± 0,7 | 21,8 ± 0,2 | 21,3 ± 0,2 | 20,5 ± 0,2 | 18,1 ± 0,3 |
| | $V$ | 19—23,5 | 20—23,5 | 20—22 | 18,5—23 | 16—20,5 |
| | $n$ | 4 | 23 | 19 | 19 | 12 |
| 3. | $M \pm m$ | 22,8 ± 0,3 | 21,7 ± 0,2 | 22,7 ± 0,3 | 21,2 ± 0,2 | 20,0 ± 0,4 |
| | $V$ | 22,5—23 | 20—23 | 21—25 | 19,5—22,5 | 18—21 |
| | $n$ | 2 | 22 | 18 | 17 | 11 |
| 4. | $M \pm m$ | | 21,9 ± 0,2 | 22,9 ± 0,2 | 21,6 ± 0,3 | 20,2 ± 0,3 |
| | $V$ | | 21—23 | 21,5—24 | 21—23 | 19—21 |
| | $n$ | | 17 | 13 | 9 | 7 |
| 5. | $M \pm m$ | | 22,4 ± 0,6 | 22,3 ± 0,6 | 21,7 ± 0,3 | 20,5 ± 0,7 |
| | $V$ | | 18,5—25 | 19—24 | 21—23,5 | 19—22 |
| | $n$ | | 10 | 9 | 9 | 4 |
| 6. | $M \pm m$ | | 21,9 ± 0,8 | 23,1 ± 0,5 | 22,3 ± 0,4 | 20,5 ± 0,7 |
| | $V$ | | 19,5—24 | 21,5—24,5 | 21—23 | 19,5—21,5 |
| | $n$ | | 5 | 6 | 4 | 3 |
| 7. | $M \pm m$ | | | | 22,3 ± 1,0 | 22,3 ± 0,3 |
| | $V$ | | | | 20—24 | 22—22,5 |
| | $n$ | | | | 4 | 2 |
| 1.—7. | $M$ | 27,2 | 23,9 | 23,6 | 22,1 | 20,8 |
| | $V$ | 19—34 | 18,5—34 | 19—31,5 | 18,5—27,5 | 16—29 |
| | $n$ | 13 | 101 | 84 | 81 | 55 |
| 2.—7. | $M \pm m$ | 21,7 ± 0,7 | 21,9 ± 0,1 | 22,3 ± 0,2 | 21,3 ± 0,2 | 19,7 ± 0,3 |
| | $V$ | 19—23,5 | 18,5—25 | 19—25 | 18,5—23,5 | 16—22 |
| | $n$ | 6 | 77 | 65 | 62 | 39 |

minima bei 15° gegenüber 20° später fast wieder aufgeholt, „kompensiert", wird. Die insgesamt geringe Temperaturabhängigkeit kommt auch in den Mittelwerten aller Periodenlängen der Perioden 1—7 zum Ausdruck.

Die Länge einer Periode im Dauerdunkel war also bei 30° nicht viel geringer als bei 20° und 25°; bei 15° war sie nur anfänglich größer, von der 2. Periode an stellte sie sich aber auf etwa 22 Std ein, was der Länge bei den anderen Temperaturen nahekommt. Die Temperaturgrenzen für periodische Blütenblattbewegungen liegen bei etwa 13 und 30°.

In Abb. 2 wird bei 11° nur noch eine Schwingung von den Blütenblättern ausgeführt und die Bewegung kommt dann zum Stillstand. Derselbe Effekt war auch bei 10° und 5° zu beobachten, nur traf bei

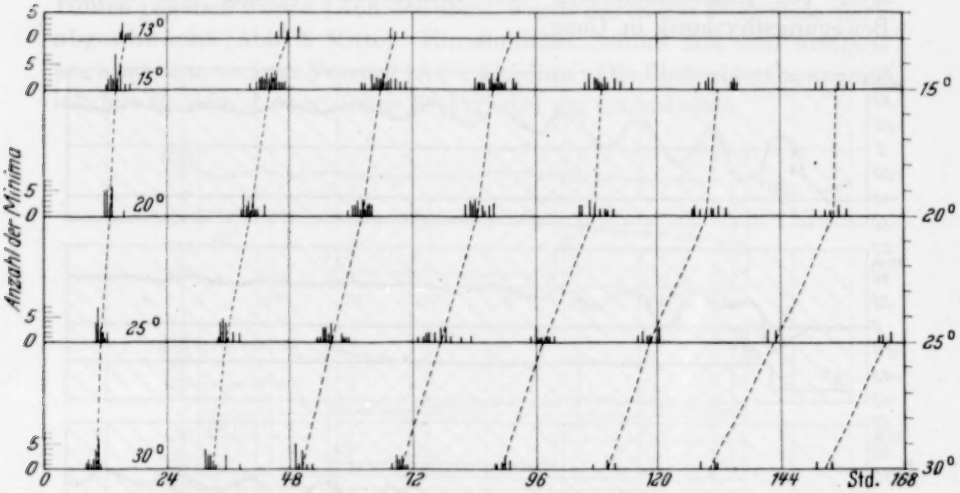



Abb. 3. Zeitliche Lage der Blütenöffnungs-Minima im Dauerdunkel in Abhängigkeit von der Temperatur. Ordinate: Anzahl der Einzelwerte zu den angegebenen Zeiten, Abszisse: Stunden nach Beginn der vorhergehenden 6stündigen Lichtperiode. Die gestrichelten Linien verbinden die Mittelwerte der einander entsprechenden Minima

diesen Temperaturen das einzige Kurvenminimum noch später ein als bei 11°. Es taucht dadurch die Frage auf, ob der den *Kalanchoë*blüten durch das 6stündige Starklicht erteilte Bewegungsimpuls durch die tiefe Temperatur zerstört wird oder ob er sich nur bei Temperaturen unter 13° nicht realisieren läßt.

Um das zu prüfen, wurden Pflanzen, die 9 Tage im Dunkeln bei 20° gestanden und danach bei 20° 6 Std Starklicht bekommen hatten (s. oben), in Dauerdunkel von 5° gestellt und nach 1, 5 und 9 Tagen im Dunkeln in 20° überführt.

Tabelle 2. *P-Werte. Statistische Sicherung (t-Test) der in Tabelle 1 wiedergegebenen Versuchsergebnisse*

$P < 0{,}0027$: Differenz gut gesichert, $P$ 0,0027 bis 0,01: Differenz schwach gesichert, $P$ 0,01 bis 0,05: Zweifel berechtigt.

| Periode | 13/15° | 15/20° | 20/25° | 25/30° | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 0,038 | 0,0002 | 0,0002 | 0,044 | |
| | 15/20° | 15/25° | 15/30° | 20/25° | 25/30° |
| 2.—7. | 0,04 | 0,0025 | 0,0002 | 0,0002 | 0,0002 |

Abb. 4 zeigt, daß die Blütenblätter nicht starr bleiben, sondern selbst nach 9 Tagen Aufenthalt in 5° mit ihren Bewegungen in 20° wieder beginnen. Dabei bestimmt der Zeitpunkt der Temperaturerhöhung die Lage des ersten Maximums.

Nun wurde weiter untersucht, ob nicht in Wirklichkeit das 5°-Intervall den Bewegungsimpuls doch zerstört, der Übergang von 5° auf 20° aber stets die Bewegung wieder neu auslöst. [Nach BÜNNING (1932) setzt bei *Phaseolus*blättern eine Temperaturerhöhung um 5° die Bewegungsrhythmik in Gang.]

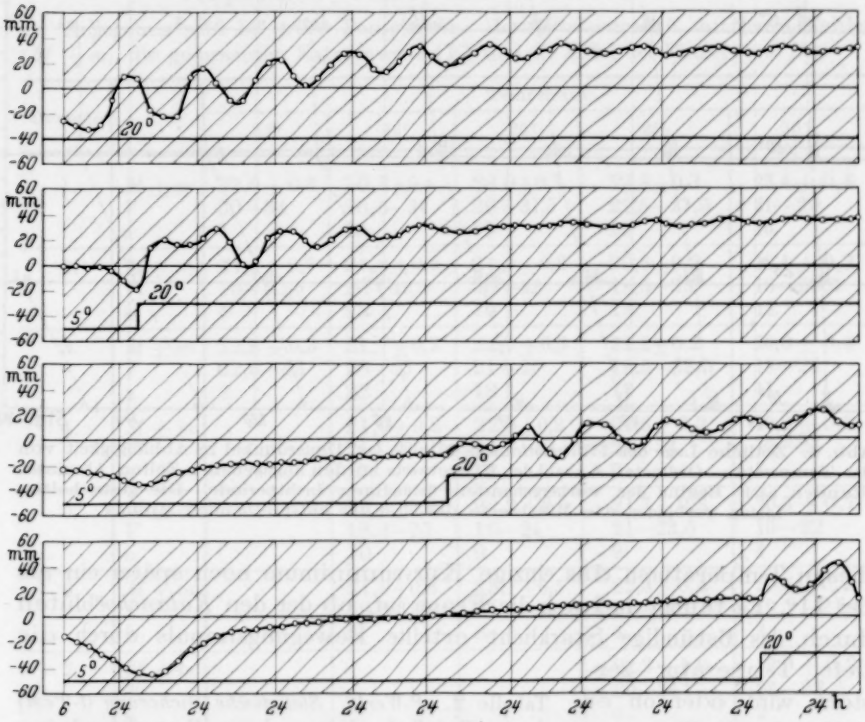



Abb. 4. Blütenblattbewegung im Dauerdunkel bei — von oben nach unten — 20° (Kontrolle) und bei 5° (1, 5 und 9 Tage lang). Die Temperatur während der vorangegangenen Lichtzeit betrug 20°. Nach Übertragung der Pflanzen aus 5° in 20° tritt die tagesperiodische Bewegung stets wieder auf

Pflanzen, die 15 Tage bei ungefähr 15° im Dauerdunkel gestanden hatten, wurden bei Grünlicht benadelt (etwa 3 Lux, 15 min je Pflanze[1]) und im Dauerdunkel in 20° gebracht (Beginn der Messungen). Nachdem erwiesen war, daß sich die meisten Blütenblätter nach 15 Tagen Dauerdunkel nicht mehr bewegten, wurde eine Gruppe von Pflanzen im Dunkeln in 5° überführt und nach 3 Tagen wieder zurück in 20° gebracht, eine zweite Gruppe erhielt bei 20° 16 Std Licht (Leuchtstoffröhren, 6700 Lux) und erst danach die 3tägige 5°-Behandlung, und eine dritte Gruppe bekam 16 Std Licht, blieb aber danach im Dauerdunkel bei 20°. Abb. 5 zeigt für jede der drei Gruppen je zwei Bewegungskurven, von denen jeweils die obere nach der Benadelung noch etwas stärkere Bewegungen als die andere anzeigt. Im Prinzip ist der Verlauf jedoch bei beiden gleichartig:

[1] Mit Grünlicht der hier verwendeten Quantität konnte an den Blütenblättern keine Bewegung induziert werden.

Eine 5°-Periode und der darauffolgende Temperaturanstieg von 5 auf 20° wirkte im Dunkeln nicht bewegungsauslösend (Abb. 5 oben). Im Gegenteil, der Bewegungsimpuls, der durch 16stündiges Licht den Blüten gegeben wurde (Abb. 5 unten), wurde durch die 5°-Periode stark abgeschwächt (Abb. 5 Mitte). Ein ähnlicher Schluß läßt sich übrigens auch aus dem vorigen Versuch (Abb. 4) ziehen: Die Blütenblattbewegung ist dort in Abb. 4 oben (ohne 5°-Periode) am intensivsten.

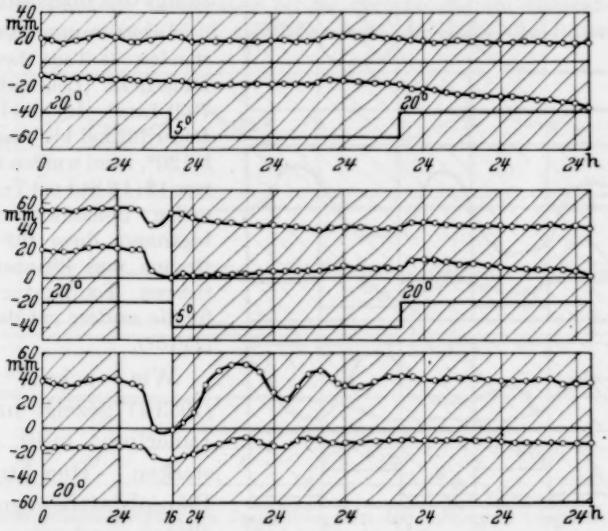



Abb. 5. *Oben:* Blütenblattbewegung im Dauerdunkel bei 20° mit eingeschobener 5°-Periode; *Mitte:* desgleichen, jedoch wurden vor der 5°-Periode 16 Std Licht gegeben; *unten:* Blütenblattbewegung im Dauerdunkel bei 20° mit eingeschobenen 16 Lichtstunden. Vorbehandlung: 15 Tage Dauerdunkel

Ein Wiederauftreten der Rhythmik nach einem 3tägigen Intervall tiefer Temperatur fanden auch Bünning und Tazawa (1957) bei *Phaseolus multiflorus* (Blattbewegungen). Es blieb jedoch offen, ob nicht die Temperaturerhöhung die Rhythmik wieder neu induziert hatte.

Bei *Kalanchoë* wird also der durch das Starklicht erteilte Bewegungsimpuls bei 5° gespeichert (gewissermaßen „eingefroren"). Die Temperaturerhöhung von 5° auf 20° wirkt für sich allein nicht bewegungsauslösend, sie ermöglicht nur eine Bewegung und bestimmt die Phasenlage der Rhythmik.

### *1b. Blütenblattbewegungen im Dauerdunkel bei wechselnden Temperaturen*

Nachdem sich herausgestellt hatte, daß Blütenblattbewegungen im Dauerdunkel durch einen Temperaturanstieg von 5 auf 20° nicht ausgelöst werden können, wurde eine Auslösung der Bewegung mit anderen Temperaturintervallen versucht (z. B. 15/25°, 20/30°). Aber

selbst wenn solche Intervalle mehrmals tagesperiodisch einwirkten, brachten sie bewegungslose Blütenblätter im Dauerdunkel nicht zum Schwingen. Führten die Blütenblätter aber vor der Temperatureinwirkung noch Bewegungen aus, so wurden diese durch den Temperaturwechsel so gesteuert, daß der Zustand der größten Blütenöffnung (Kurvenmaximum) in die Phase höherer Temperatur fiel. Ein Beispiel für eine solche Steuerung bringt der folgende Versuch.

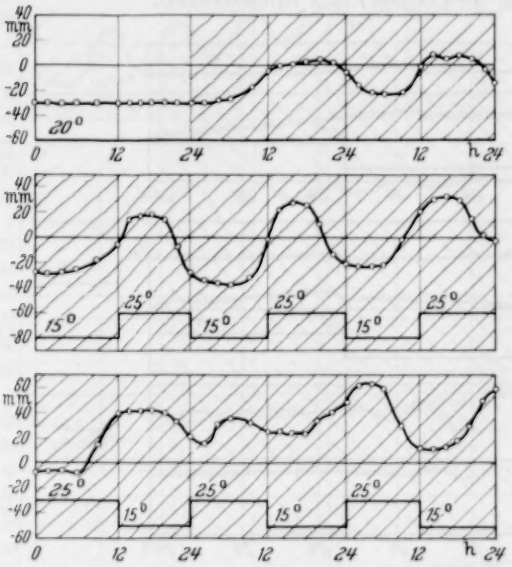



Abb. 6. *Oben:* Blütenblattbewegung vor und nach dem Übergang vom Dauerlicht zum Dauerdunkel (Temperatur konstant 20°); *mittlere* Kurve: Bewegung im Dauerdunkel unter der Einwirkung von 12:12stündigen Temperaturcyclen (15/25°); *unten:* desgleichen, jedoch wurde bei Dauerdunkelbeginn zuerst die hohe Temperatur (25°) gegeben. — Vorbehandlung: Dauerlicht bei 20°

Drei Gruppen von Pflanzen standen 3 Tage bei 20° im Dauerlicht (Leuchtstoffröhren, 7000 Lux). Im anschließenden Dauerdunkel blieb eine Gruppe bei 20°, zwei wurden im Rhythmus 12:12 Std mit Temperaturcyclen behandelt; und zwar begannen diese für die eine Gruppe von Pflanzen mit der tieferen Temperatur (15/25°), für die andere mit der höheren (25/15°).

Wie schon Bünsow (1953a) gezeigt hat, führt Dauerlicht meist zu einer starken Hemmung der Blütenblattbewegung, die Blüten verharren dann in mehr oder weniger geschlossenem Zustande. Abb. 6 oben gibt dafür ein Beispiel aus eigenen Versuchen. Der Übergang zum Dauerdunkel ohne Temperaturänderung löste tagesperiodische Bewegungen aus, und zwar zunächst eine Öffnungsbewegung (Kurvenanstieg, Abb. 6 oben). Auch bei den mit Temperaturwechseln behandelten Gruppen öffneten sich nach Dauerdunkelbeginn zunächst die Blüten. Das erste Öffnungsmaximum fiel bei der einen Gruppe (15/25°, Abb. 6 Mitte) in die Zeit hoher Temperatur (25°), bei der anderen (25/15°, Abb. 6 unten) noch in die Zeit der tiefen Temperatur (15°). Offensichtlich wirkte der Dunkelheitsbeginn stärker regulierend auf die Rhythmik als die Temperaturänderung. Das zweite Maximum lag aber auch in Abb. 6 unten schon, wenn auch schwach ausgebildet, in der Phase der hohen Temperatur. Die Rhythmik ist also nach ein bis zwei Temperaturcyclen völlig umgekehrt worden.

Temperaturcyclen *steuern* also die Blütenblattbewegungen von *Kalanchoë* im Dauerdunkel, *lösen sie aber nicht aus.*

### *2a. Blütenblattbewegungen im Dauerlicht verschiedener Intensität*

Nach dem Verhalten der Tagesrhythmik im Dauerdunkel war nun die Reaktion im Dauerlicht zu prüfen. Zunächst mußte dazu die für Blütenblattbewegungen optimale Intensität ermittelt werden.

Die Pflanzen standen 8 Tage im Dauerdunkel bei etwa 16°, danach bekamen sie Dauerlicht bei 20°. Die Lichtintensitätsunterschiede wurden durch teilweise Abdunkelung der Leuchtstoffröhren mit Gaze und durch die Aufstellung der Pflanzen in verschieden weitem Abstand von der Lichtquelle hergestellt. Dabei war eine etwas höhere Temperatur bei der Gruppe, die am dichtesten unter den Leuchtstoffröhren stand, nicht zu vermeiden: In Höhe der Blütenstände, die

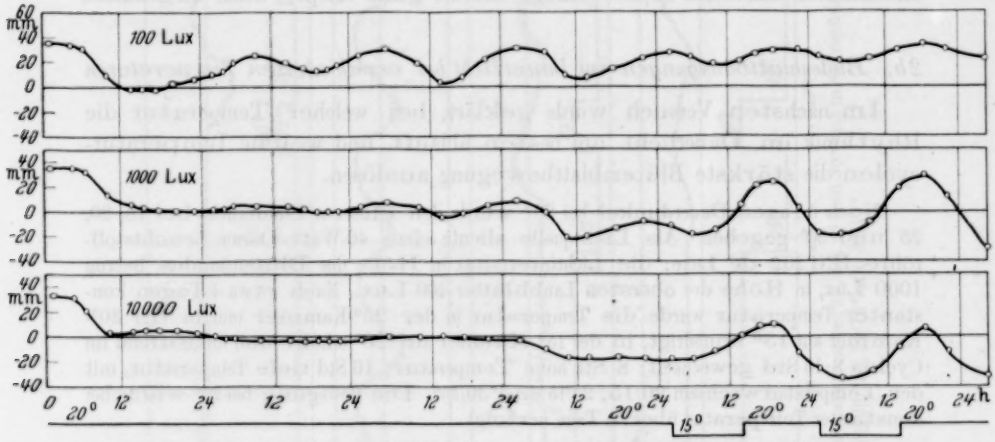



Abb. 7. Blütenblattbewegung im Dauerlicht von 100, 1000 und 10000 Lux bei anfangs (4 Tage) 20° und anschließendem 12:12stündigen Temperaturwechsel von 20/15°

10000 Lux ± 300 bekamen, herrschte statt 20° eine Temperatur von 22°, in Höhe der obersten Blattpaare dieser Gruppe von 20,5° (Lichtintensität 5000 Lux). Eine andere Gruppe bekam 1100 Lux ± 100 (900 in Höhe der obersten Blattpaare) und die dritte Gruppe 100 Lux ± 30 (die obersten Blattpaare infolge starken Streulichtes in der Klimakammer 150 Lux). Nach 4 Tagen bei konstant 20° wurde die Temperatur der Kammer durch Umschalten auf 15° gesenkt (bzw. 16° bei der 10000 Lux-Gruppe) und im Rhythmus 12:12 Std Temperaturcyclen gegeben (15/20°).

Beispiele für Blütenblattbewegungen im Dauerlicht sind in Abb. 7 angeführt. Bei geringen Intensitäten (100 Lux) trat die Rhythmik am deutlichsten zutage: Von 6 Blüten zeigten 4 deutliche, etwa tagesperiodische Bewegungen; bei 1000 Lux war es eine einzige und bei 10000 Lux gar keine. Der Temperaturwechsel wirkte steuernd auf die Rhythmik: Das letzte Maximum der Blütenöffnung in konstanter Temperatur bei 100 Lux fiel zufällig an den Beginn der ersten 15°-Phase (Abb. 7 oben), aber schon in die 2. Phase tiefer Temperatur (15°) fiel ein Öffnungsminimum, wie es bei Temperaturcyclen unter konstanten Lichtbedingungen die Regel ist. Außerdem zeigten auch die Bewegungen der einzelnen Blüten bei 100 Lux, die bei konstanter Temperatur asynchron verliefen, nach einem Temperaturcyclus synchronen Verlauf.

Temperaturcyclen wirkten im Dauerlicht aber nicht nur *steuernd* auf die Rhythmik, sondern auch *auslösend* (Abb. 7, mittlere und untere Kurve): Die Amplitude wurde bei der 1000-Lux-Kurve deutlich vergrößert, bei 10000 Lux trat tagesperiodische Bewegung überhaupt erst nach dem Temperaturwechsel auf! Bemerkenswert ist, daß die Temperaturcyclen nicht dort die Bewegung am meisten verstärkten, wo die Bewegung sowieso schon am ausgeprägtesten in Erscheinung trat, nämlich bei 100 Lux, sondern bei 1000 und 10000 Lux.

Ein Versuch, bei dem die Temperatur 25° (konstant über 4 Tage) und der anschließende Wechsel 25/15° betrug, brachte ganz entsprechende Ergebnisse.

*2b. Blütenblattbewegungen im Dauerlicht bei verschiedenen Temperaturen*

Im nächsten Versuch wurde geklärt, bei welcher Temperatur die Rhythmik im Dauerlicht am besten abläuft und welche Temperaturcyclen die stärkste Blütenblattbewegung auslösen.

Nach 6 Tagen Dauerdunkel bei 20° wurde den Pflanzen Dauerlicht bei 15, 20, 25 und 30° gegeben. Als Lichtquelle diente eine 40-Watt-Osram-Leuchtstoffröhre HNI 202 de Luxe; die Lichtintensität in Höhe des Blütenstandes betrug 1000 Lux, in Höhe der obersten Laubblätter 400 Lux. Nach etwa 4 Tagen konstanter Temperatur wurde die Temperatur in der 25°-Kammer und in der 30°-Kammer auf 15° erniedrigt, in der 15°-Kammer auf 20° erhöht und fortlaufend im Cyclus 8:16 Std gewechselt: 8 Std hohe Temperatur, 16 Std tiefe Temperatur, mit den Temperaturwechseln 20/15, 25/15 und 30/15°. Die Bewegung bei 20° wurde bei konstanter Temperatur über 7 Tage verfolgt.

Abb. 8 veranschaulicht das Ergebnis: Die Tagesrhythmik war bei dieser Versuchsanordnung im Dauerlicht bei 20° mindestens eine Woche lang deutlich, bei 15° nur etwa 3 Tage und bei 25 und 30° war sie überhaupt nur schwach ausgeprägt, übrigens auch, wie andere Versuche zeigten, bei höheren Lichtintensitäten. Von den angegebenen Temperaturcyclen erwies sich überraschenderweise der Cyclus mit der kleinsten Temperaturdifferenz (20/15°) als am wirksamsten hinsichtlich der Auslösung von Blütenblattbewegungen.

Im Hinblick auf die später beschriebenen Induktionsversuche (Versuch einer Auslösung der Blütenbildung im Dauerlicht) erschien es notwendig zu ermitteln, unter welchen Bedingungen die Rhythmik im Dauerlicht am stärksten ausgeprägt sein würde.

Hierzu wurden die Temperaturcyclen 20/15, 20/10 und 15/10°, jeweils 9:15 Std, geprüft. Die Lichtintensität (Leuchtstoffröhren) betrug 4000 Lux. Die Pflanzen wurden in diesem Fall gleich nach der Übertragung aus dem Gewächshaus in den Klimakammern den Temperaturcyclen ausgesetzt. Der Temperaturwechsel wurde erreicht durch Umtragen der Pflanzen in auf verschiedene Temperaturen eingestellte Klimakammern. Nach 6 Tagen mit Temperaturwechseln wurde die Blütenbewegung noch einen Tag lang bei konstantbleibender Temperatur im Dauerlicht verfolgt.

In der Abb. 9 ist die Blütenblattbewegung am 6. und 7. Versuchstag aufgezeichnet; die Bewegungskurve hatte im Cyclus 20/15° die größte

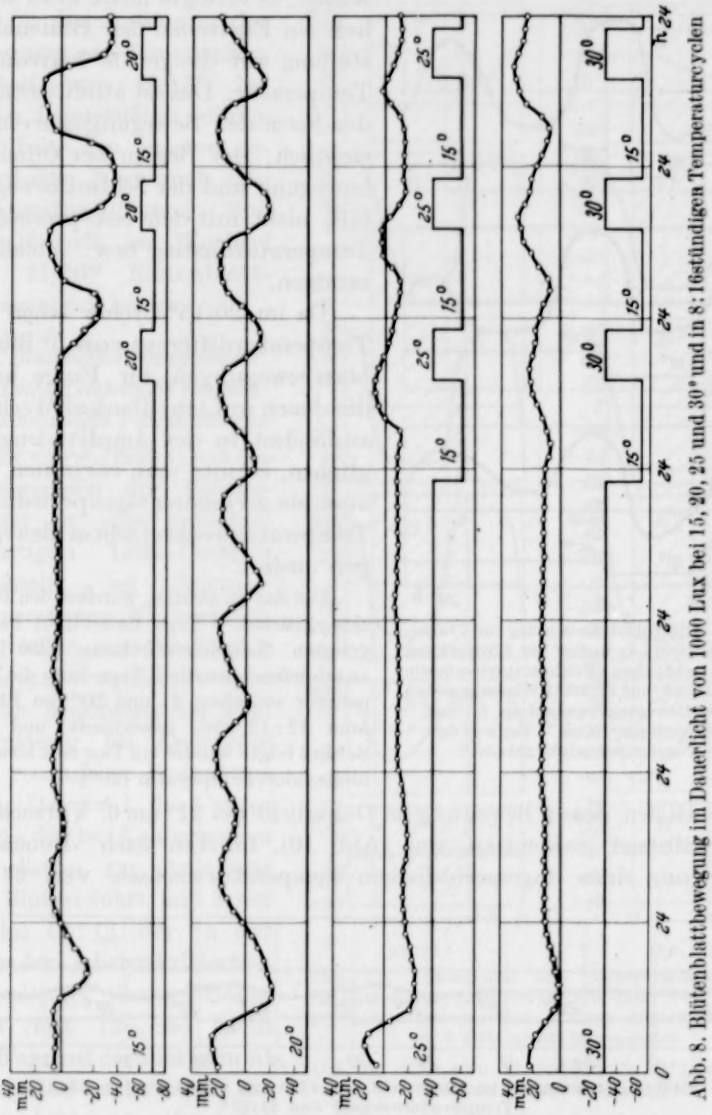



Abb. 8. Blütenblattbewegung im Dauerlicht von 1000 Lux bei 15, 20, 25 und 30° und in 8:16stündigen Temperaturcyclen von 20/15°, 25/15° und 30/15°

Amplitude, sie erreichte fast die Form der Bewegungskurven in Licht-Dunkel-Wechseln (s. unten). In den Cyclen 20/10° und 15/10° waren die Amplituden etwas geringer, zudem lag das Öffnungsmaximum hier (im Gegensatz zu 20/15°) in der Phase hoher Temperatur. Bei Temperatur-

konstanz setzte sich die Bewegung fort, ein Zeichen dafür, daß tatsächlich die endogene Tagesrhythmik durch den Temperaturwechsel angestoßen wurde; es erfolgte nicht etwa lediglich ein Einstellen der Blütenblattstellung auf die gerade herrschende Temperatur. Das ist auch schon aus der Form der Bewegungskurven ersichtlich: Der Beginn der Öffnungsbewegung und der Schließbewegung fällt nicht mit dem entsprechenden Temperaturanstieg bzw. -abfall zusammen.

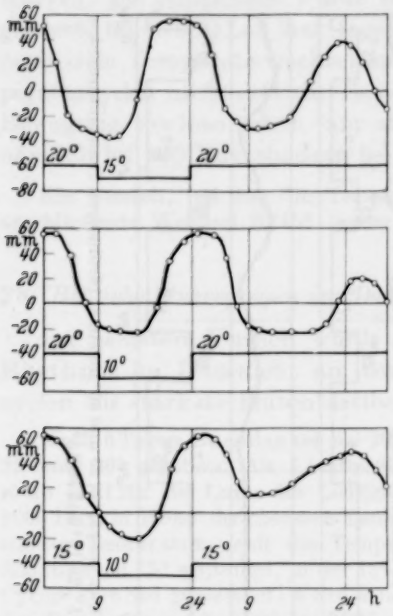



Abb. 9. Blütenblattbewegung im Dauerlicht von 4000 Lux unter der Einwirkung von 9:15stündigen Temperaturwechseln (20/15°, 20/10° und 15/10°). Wiedergegeben ist der Bewegungsverlauf am 6. und 7. Versuchstag. Am 7. Tag wurde die Temperatur nicht geändert

Da im 20/15°-Cyclus schon eine Temperaturdifferenz von 5° Blütenblattbewegungen zur Folge hatte, die denen in Licht-Dunkel-Wechseln zumindest in der Amplitudengröße glichen, konnte man vermuten, daß auch ein geringerer tagesperiodischer Temperaturwechsel schon Bewegungen auslöst.

Um das zu prüfen, wurden den Pflanzen zunächst 6 Tage Dauerlicht bei 21° geboten (Leuchtstoffröhren 4200 Lux); anschließend wurde 3 Tage lang die Temperatur zwischen 21 und 20° im Rhythmus 12:12 Std gewechselt und zum Schluß folgte wieder ein Tag mit konstant bleibender Temperatur (20°).

Die Blüten, deren Bewegung im Dauerlicht bei 21° am 6. Versuchstag zum Stillstand gekommen war (Abb. 10), führten nach dreimaliger Einwirkung eines tagesperiodischen Temperaturwechsels von 21:20°

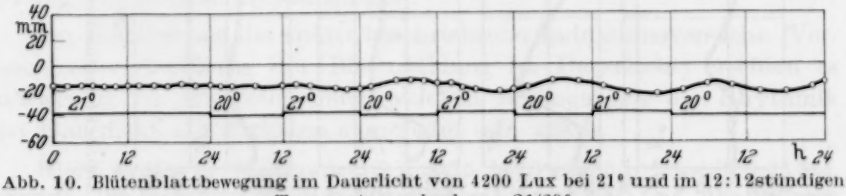



Abb. 10. Blütenblattbewegung im Dauerlicht von 4200 Lux bei 21° und im 12:12stündigen Temperaturwechsel von 21/20°

deutliche Bewegungen aus (Amplitude ungefähr 10 mm), die sich anschließend bei konstanter Temperatur fortsetzten. Es ist also bei Versuchen über die endogene Tagesrhythmik unter Umständen sehr wichtig, auf völlige Temperaturkonstanz zu achten.

*Zusammenfassend* ergibt sich also, daß Blütenblattbewegungen im *Dauerlicht* am besten bei 20° und niedrigen Lichtintensitäten (wenige 100 Lux) möglich sind und daß für die Auslösung der Bewegung ein Temperaturwechsel von 20/15° bei hohen Intensitäten (einige 1000 Lux) am meisten geeignet ist. Aber auch eine Temperaturdifferenz von nur 1° ruft im Wechsel von 21/20° Blütenblattbewegungen hervor.

### *3a. Blütenblattbewegungen in Licht-Dunkel-Wechseln bei konstanten Temperaturen*

Bünsow (1953a) hat die Bewegungen der Blütenblätter in sehr verschiedenartigen Licht-Dunkel-Wechseln bei Normaltemperaturen (20°) verfolgt. Hier sollen nur die Cyclen untersucht werden, welche für die Auslösung der Blütenbildung bei *Kalanchoë* von besonderer Bedeutung sind. Das ist 1. der Cyclus 9:15[1], der bei *Kalanchoë* am schnellsten zur Anlegung von Blüten führt, und 2. der Cyclus 12:12, der in der Nähe der „oberen kritischen Tageslänge" dieser Pflanze liegt (mit $12^1/_2$ Std Licht pro Tag und darüber kommt *Kalanchoë* nicht mehr zur Blütenbildung). Zunächst wurde ermittelt, wie die Blütenblattbewegung in diesen Cyclen bei verschiedenen, konstant bleibenden Temperaturen verläuft.

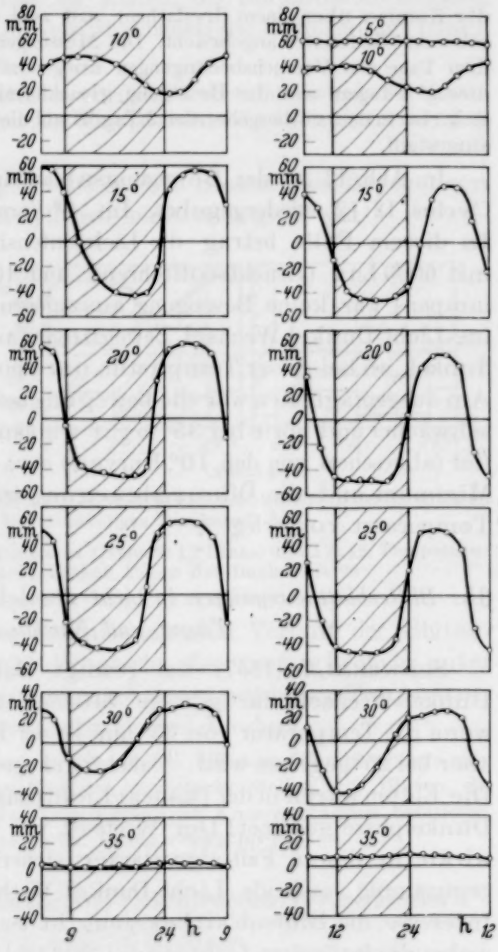



Abb. 11




Abb. 12

Abb. 11. Ausschnitte aus Bewegungskurven im 9:15stündigen Licht-Dunkel-Wechsel bei den angegebenen Temperaturen, nach Mittelwerten aus je 7 Blütenblattbewegungen

Abb. 12. Wie Abb. 11, jedoch für 12:12stündigen Licht-Dunkel-Wechsel

[1] 9 Std Licht, 15 Std Dunkelheit pro Tag; die Dunkelzeiten sind jeweils unterstrichen.

Die Pflanzen wurden mit Leuchtstoffröhren beleuchtet (4200 ± 300 Lux) und Temperaturen von 5, 10, 15, 20, 25, 30 und 35° ausgesetzt. In den Versuchen mit 5° und 10° waren die Leuchtstoffröhren, wie auf S. 236 geschildert, außerhalb der Kammer über einem dreifachen, mit zwei evakuierten Zwischenräumen versehenen Glasfenster angebracht. Die Messungen begannen, nachdem die Pflanzen drei Tage den Versuchsbedingungen ausgesetzt waren, und dauerten 4 Tage. In diesen 4 Tagen war die Bewegung gleichförmig; die Bewegungsrhythmik hatte sich also in den vorhergehenden 3 Tagen auf die veränderten Umweltsbedingungen eingestellt.

In Abb. 11 ist der Bewegungsablauf im Cyclus 9:15, in Abb. 12 im Cyclus 12:12 wiedergegeben. Im 5°-Versuch blieben die Blüten starr. In diesem Falle betrug die Lichtintensität nur 2900 Lux, aber auch mit 6000 Lux (Leuchtstoffröhren) und 10000 Lux (Quecksilberdampflampen) war keine Bewegung auszulösen. Bei 10° führten die Blüten im Licht-Dunkel-Wechsel Bewegungen aus, im Gegensatz zum Dauerdunkel, wo bei dieser Temperatur nur eine Schwingung vollendet wurde. Am ausgeprägtesten war die Bewegung bei 15, 20 und 25°, bei 30° war sie schwächer und hörte bei 35° so gut wie ganz auf. Das Öffnungsmaximum fiel (abgesehen von den 10°-Kurven) etwa in die Mitte der Lichtzeit, das Minimum und die Öffnungsbewegung wurden aber mit zunehmender Temperatur vorverlegt.

### *3b. Blütenblattbewegungen in Licht-Dunkel-Wechseln mit unterschiedlicher Tages- und Nachttemperatur*

Schwemmle (1957) hat gezeigt, daß im 12:12stündigen Licht-Dunkel-Wechsel eine geringe Blütenblattbewegung noch stattfindet, wenn die Temperatur von 35° nur in der Dunkelheit herrscht, das Licht aber bei 20° gegeben wird. Dabei fand eine Umkehr der Rhythmik statt: Die Blüten waren in der (kalten) Lichtphase geschlossen, in der (warmen) Dunkelphase geöffnet! Der Wechsel von hoher und tiefer Temperatur wirkte in diesem Fall also stärker steuernd auf die Rhythmik als der gegensinnig laufende Licht-Dunkel-Wechsel. Es erschien daher von Interesse, die Blütenblattbewegung in dem Cyclus 9:15 zu untersuchen, wobei die 9stündige Lichtzeit bei 20° und die 15stündige Dunkelzeit bei 35° gegeben wurde.

Die Pflanzen bekamen Licht von Leuchtstoffröhren (4200 Lux). Am Beginn einer jeden Dunkelzeit wurden sie in eine andere Klimakammer mit der entsprechenden Temperatur getragen und am Ende der Dunkelzeit wieder zurück unter das Leuchtaggregat gestellt.

In Abb. 13 sind 2 Kurven wiedergegeben, von denen die schwächer ausgeprägte untere im Januar, die andere im Mai aufgenommen wurde. Die Ergebnisse entsprechen ganz denen von Schwemmle (1957): Auch im Cyclus 9:15 waren Blütenblattbewegungen möglich, wenn die Dunkeltemperatur 35° betrug, die Tagestemperatur aber 20°. Die Rhythmik

stellte sich so ein, daß die Blüten in der warmen Phase geöffnet waren, obwohl dann Dunkelheit herrschte, und das Kurvenminimum im Licht lag.

Es blieb jetzt noch die Frage zu klären, ob Blütenblattbewegung möglich wäre, wenn nicht die Dunkelzeit sondern die Lichtzeit mit hoher Temperatur kombiniert würde.

Die Versuchsanordnung glich der im vorigen Versuch, nur wurde im Cyclus 9:15 und 12:12 Licht bei 35° gegeben; die Temperatur in der 15- bzw. 12stündigen Dunkelzeit betrug 20°.

Die Kurven in Abb. 14 zeigen, daß auch in diesem Fall Bewegungen möglich sind, wenn auch die Amplitude nicht sehr groß war.

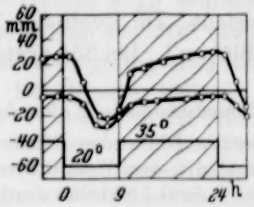



Abb. 13

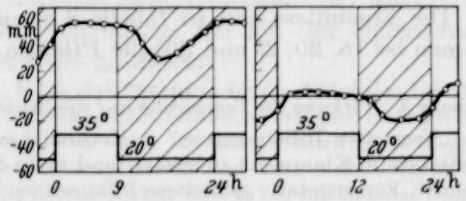



Abb. 14

Abb. 13. Ausschnitte aus Bewegungskurven im Cyclus 9:15. Temperatur in der 9stündigen Lichtzeit 20°, in der 15stündigen Dunkelzeit 35°

Abb. 14. Ausschnitte aus Bewegungskurven im Cyclus 9:15 (links) und 12:12. Temperatur in der 9- bzw. 12stündigen Lichtzeit 35°, in der Dunkelzeit 20°

Die Temperaturverhältnisse beeinflussen den Verlauf der Blütenblattbewegungen in Licht-Dunkel-Wechseln also ganz erheblich; unter Umständen richtet sich die Bewegung nach einem gegebenen Temperaturcyclus aus und nicht nach dem Licht-Dunkel-Wechsel.

Anmerkung: In den Versuchen, in denen die Pflanzen Temperaturen von 35° ausgesetzt waren, traten an den Blättern nekrotische Stellen auf. Blüten, die sich zur Zeit der Einwirkung hoher Temperatur im Knospenstadium befanden, öffneten sich wesentlich später und waren häufig verkrüppelt.

## II. Auslösung der Blütenbildung bei verschiedenen Temperaturen

### *1. In Licht-Dunkel-Wechseln*

Zur Frage nach der Abhängigkeit der Stärke der Blühinduktion von der Temperatur sei hier zunächst ein Versuch wiedergegeben, bei dem alle Pflanzengruppen gleichzeitig den Versuchsbedingungen ausgesetzt waren. Die Ergebnisse sind daher miteinander vergleichbar. Es hatte sich nämlich gezeigt, daß Gruppen, die nacheinander in den Versuch genommen wurden, sich schon wegen der unterschiedlichen Bedingungen der Vor- und Nachkultur im Gewächshaus in den Ergebnissen unterschieden.

Vegetative Pflanzen wurden in Klimakammern 15 Tage den Licht-Dunkel-Wechseln 9:15 und 12:12 ausgesetzt. Die Lichtintensität betrug 3400 Lux ± 400

(Leuchtstoffröhren). Für die Gruppen, die 12 Std Licht und 12 Std Dunkelheit erhielten, wurde das Licht in der Kammer während 12 Std ausgeschaltet. Die Gruppen mit 9:15 Std blieben ebenfalls in der Kammer stehen, sie wurden aber nach 9 Std Licht mit Dunkelstürzen bedeckt, so daß sie 15 Dunkelstunden erhielten. Die Induktionsstärke der Cyclen 9:15 und 12:12 wurde bei konstanten Temperaturen von 15, 20, 25, 30 und 35° untersucht und in den Temperaturwechseln 35/20° und 20/35° (die unterstrichenen Temperaturen stellen die Dunkeltemperaturen dar). Die Gruppen mit 35°-Licht- und 20°-Dunkelperiode bzw. 20°-Licht- und 35°-Dunkelperiode wurden am Anfang und Ende einer jeden Lichtzeit jeweils in die Kammer mit der entsprechenden Temperatur getragen. In der 20°-Kammer fiel nachts die Temperatur aus technischen Gründen auf 19°. Jede Versuchsgruppe bestand aus 9 Pflanzen, so daß $7 \times 2 \times 9 = 126$ Pflanzen gleichzeitig im Versuch waren.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefaßt. Im Cyclus 9:15 kamen bei 15, 20, 25 und 30° alle Pflanzen zum Blühen[1]. Bei 35° traten

Tabelle 3. *Wirkung der Temperatur auf die Stärke der Blühinduktion bei Kalanchoë.*

„Vegetative Inflorescenzen" (s. Methodik) sind unter den blühenden Pflanzen zusätzlich (in Klammern) aufgeführt und in der Blütenzahl mit dem Wert 0,5 verrechnet. Für vegetativ gebliebene Pflanzen wurde in der Rubrik „Sichtbarwerden der Inflorescenzanlagen" (Tage nach Versuchsbeginn) der Wert 100 eingesetzt.

| | | 15° | 20° | 25° | 30° | 35° | 35/20° | 20/35° |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9:15 | Zahl der Pflanzen je Gruppe | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 |
| | Blühende Pflanzen | 9 | 9 | 9 | 9 | 0 | 9 | 9 |
| | Sichtbarwerden der Inflorescenzanlagen (Tage mit mittl. Fehler) | 30,4 ±0,8 | 23,0 ±0,7 | 23,3 ±1,5 | 31,0 ±2,1 | 100 | 21,4 ±0,9 | 27,8 ±0,7 |
| | Blütenzahl je Pflanze | 127,4 | 157,8 | 187,1 | 152,6 | — | 152,7 | 201,2 |
| 12:12 | Zahl der Pflanzen je Gruppe | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 |
| | Blühende Pflanzen | 0 | 0 (1) | 9 | 0 (1) | 0 | 9 | 0 |
| | Sichtbarwerden der Inflorescenzanlagen (Tage mit mittl. Fehler) | 100 | 92,8 | 34,3 ±3,3 | 92,3 | 100 | 35,3 ±1,9 | 100 |
| | Blütenzahl je Pflanze | — | 0,06 | 125,4 | 0,06 | — | 52,3 | — |

keine Blüten mehr auf; bei dieser Temperatur bekamen die Pflanzen nekrotische Stellen an Blattspitzen und -rändern. Wirkte die Temperatur von 35° dagegen nur in der Lichtzeit oder nur in der Dunkelzeit ein, so verhinderte sie die Auslösung der Blütenbildung nicht. Ob das daher

[1] In einem anderen Versuch konnte bei 10° im Cyclus 9:15 keine Blütenbildung ausgelöst werden.

kommt, daß die schädigende Temperatur nur während eines Teiles des Tages einwirkte (und damit die Schäden geringer waren) oder ob ein günstiger Einfluß der Thermoperiode (vgl. WENT) vorlag, dürfte schwer zu entscheiden sein. Die Zeitspanne bis zum Sichtbarwerden der Blütenstandsanlagen war im Cyclus 9:15 in der Gruppe 35/20° kürzer als in der Gruppe 20/35°. Der Unterschied ließ sich statistisch sichern ($P < 0{,}0002$) und reproduzieren. Daß in der Gruppe 20/35° die Blütenzahl größer war als in 35/20°, muß als Zufallergebnis angesehen werden; es konnte nicht reproduziert werden. Das Temperaturoptimum für die Blühinduktion lag bei etwa 25°, wie aus den Ergebnissen im Cyclus 12:12 hervorgeht. Im Cyclus 9:15 wurden allerdings die Blütenstandsanlagen nach einer Induktion bei 20° etwas früher sichtbar als bei 25°, der Unterschied war aber gering und statistisch nicht gesichert.

Bei RÜNGER (1956 und 1958a, b) lag das Optimum für die Induktion bei 20°, bei 30° ließen sich die Pflanzen nicht mehr zur Blütenbildung bringen, ebenso nicht im Temperaturwechsel 20/35° (9:15), wohl aber im Temperaturwechsel 35/20°. Worin diese tiefere Lage des Temperaturoptimums und -maximums begründet liegt, in der Methodik (Tageslicht; Luftfeuchtigkeit 80—95%), im Material (Sorte „Tom Thumb") oder in welchen anderen Ursachen, läßt sich nicht angeben.

In unseren Versuchen sollte das endogen-tagesrhythmische Verhalten von *Kalanchoë* zur Blühreaktion in Beziehung gebracht werden. Beide sind besonders schlecht in Einklang zu bringen in dem Versuch, der in Tabelle 3 in der letzten Spalte angeführt ist. Wurde den Pflanzen 9 Std Licht je Tag bei 20° und 15 Std Dunkelheit bei 35° geboten, so legten sie Blüten an, obwohl das Licht ja (s. Abb. 13) überwiegend in die „skotophile Phase" der endogenen Tagesrhythmik fiel (angezeigt durch geschlossene Blüten). Es könnte nun gerade in diesem Versuch ein methodischer Fehler vorgelegen haben insofern, als die Pflanzen, die nach der Lichtzeit aus dem 20°-Raum in den 35°-Raum getragen und dort mit einem Dunkelsturz bedeckt wurden, sich unter diesem an die Temperatur nur langsam anglichen. Deshalb wurde ein weiterer Versuch angesetzt, bei dem die Pflanzen ihre Dunkelzeit in der 35°-Kammer ohne Dunkelsturz verbrachten. Tatsächlich war dieses Mal der Blühimpuls geringer, von 9 Pflanzen kamen aber immerhin noch 5 zur Blüte, so daß zumindest die Blühhemmung des in die skotophile Phase fallenden Lichtes nicht sehr groß sein konnte.

Diese Erscheinung wurde mit veränderter Versuchsanordnung weiterverfolgt und dabei gleichzeitig die schon zu Schäden führende Temperatur von 35° vermieden.

Je 4 blühende und 9 vegetative Pflanzen wurden in zwei Klimakammern bei 20° aufgestellt. An den blühenden Pflanzen wurde der Verlauf der endogenen Tagesrhythmik an Hand der Öffnungs- und Schließbewegungen der Blüten verfolgt, und zwar in jeder der beiden Kammern an mindestens 4 Blüten gleichzeitig. In einer Kammer bekamen die blühenden und vegetativen Pflanzen 15 Tage lang immer dann 2—6 Std Licht, wenn die Blüten geöffnet waren (d. h. in der photo-

philen Phase), in der anderen dann, wenn sie geschlossen waren (skotophile Phase). Die Lichtintensität (Leuchtstoffröhren) betrug in jeder Kammer bei den blühenden Pflanzen (in Höhe der Blütenstände) und bei den vegetativen Pflanzen, die zur Blütenbildung veranlaßt werden sollten (und die etwas erhöht unter demselben Leuchtaggregat standen), 5000 Lux ± 300.

Abb. 15. Blütenblattbewegung bei 20°. Die Lichtzeiten fielen jeweils in die Abschnitte der größten Blütenöffnung. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn. Am 6. Versuchstag wurde eine neue Blüte benadelt

Abb. 16. Blütenblattbewegung bei 20°, wie in Abb. 15, jedoch fielen die Lichtzeiten jeweils in die Abschnitte der geringsten Blütenöffnung („skotophile Phase")

Bei den Pflanzen, die das Licht zur Zeit der maximalen Blütenöffnung bekamen, veränderte sich die zeitliche Lage der Kurvenmaxima und -minima kaum; wie zu erwarten war, trat einmal am Tag ein Maximum auf. Etwa zur Zeit dieses Maximums wurde täglich Licht gegeben (Abb. 15 für die ersten 7 Versuchstage). Erhielten die Pflanzen aber Licht z. Z. der skotophilen Phase (Blüten geschlossen), so störte das den normalen Ablauf der Rhythmik ganz erheblich (Abb. 16): Die Blüten gingen, wenn auch das Licht schon wieder abgeschaltet war, zu einer Öffnungsbewegung über, blieben kurze Zeit geöffnet, vollführten eine schwache Schließbewegung, die zu einem kleinen „Zwischenminimum" führte, und öffneten sich dann wieder. Dieses zweite Öffnungsmaximum befand sich stets gerade 24 Std nach Einwirkung der letzten Lichtzeit, die in dieser Versuchsgruppe ja in einem Öffnungsminimum (skotophile Phase) geboten wurde.

Licht, das nur in eine skotophile Phase (Öffnungsminimum der Blüten) fällt, steuert also die Rhythmik so, daß etwa 24 Std später eine

photophile Phase (Öffnungsmaximum) folgt. Diese steuernde Wirkung hat schon Licht von 2 Std Dauer.

Dieser eben besprochenen Versuchsgruppe wurde nun nicht alle 24 Std Licht gegeben, sondern es wurde gewartet, bis die Blüten sich wieder schlossen; das Licht wurde dann erst in diesem zweiten Öffnungsminimum eingeschaltet, das meistens stärker ausgeprägt war als das „Zwischenminimum". Die Dunkelzeiten waren also länger als in der ersten Versuchsgruppe, und die Pflanzen bekamen, von einer Ausnahme abgesehen, nur in etwa 33 Std einmal Licht. Wären die Pflanzen während der „Zwischenminima" beleuchtet worden, so wären die Dunkelperioden zu kurz geworden, was nach allen bisherigen Erfahrungen an *Kalanchoë* einem Blüherfolg abträglich ist (s. auch Schmitz 1951). Wie Abb. 16 zeigt, gelang es nicht immer, das Licht genau auf das Öffnungsminimum zu begrenzen, denn es läßt sich kaum mit Sicherheit vorhersagen, wie lange eine Blüte noch im Öffnungsminimum verharren bzw. wann sie in eine Öffnungsbewegung übergehen wird. Im Laufe des Versuches erhielten die Pflanzen der ersten Gruppe (Licht in der photophilen Phase, Abb. 15) 15 Langnächte (mindestens je 14 Std) und insgesamt 48 Std Licht, die Pflanzen der zweiten Gruppe (Licht in der skotophilen Phase, Abb. 16) 10 Langnächte und 2 Kurznächte (von 6 und 10 Std) und insgesamt 44 Std Licht.

Die Induktionswirkung des zu verschiedenen Zeiten der endogenen Tagesrhythmik gebotenen Lichtes war unterschiedlich: Die 9 Pflanzen, die Licht in der photophilen Phase bekamen, legten alle in kurzer Zeit Blüten an, und zwar wurden die Anlagen durchschnittlich 21 Tage nach Versuchsbeginn sichtbar. Von den anderen (Licht in der skotophilen Phase) kamen nur 8 von 9 nach erst 33 Tagen zur Anlage von Blüten. Die Lichtwirkung war im zweiten Fall also bedeutend geringer. Immerhin wurde aber das Ergebnis des früher besprochenen Versuches (Tabelle 3, letzte Spalte) gestützt:

Licht, das nur in der „skotophilen Phase" der endogenen Tagesrhythmik geboten wird, *kann* Blütenbildung auslösen.

### 2. *Blühinduktion im Dauerlicht und Dauerdunkel*

Zur weiteren Aufklärung des Zusammenhanges zwischen eTR und Blühverhalten bei *Kalanchoë* sollten Versuche im Dauerlicht und Dauerdunkel dienen. In einem früheren Experiment hatte sich ergeben, daß ein tagesperiodischer Temperaturwechsel von 20/15° im Dauerlicht periodische Blütenblattbewegungen auslöst (Abb. 8 oben), die bei 4000 Lux fast ebenso ausgeprägt sind (Abb. 9 oben), wie Bewegungen in Licht-Dunkel-Wechseln. Besteht nun eine enge Verbindung zwischen endogener Tagesrhythmik und der Stärke der Blühinduktion, etwa derart, daß die Blütenbildung gefördert wird, wenn die Rhythmik gut ablaufen kann, dann ließe sich im Dauerlicht eine Blühförderung durch einen täglichen Temperaturwechsel erwarten.

Auf den ersten Blick scheint der Versuch, bei einer Kurztagpflanze im Dauerlicht Blütenbildung hervorzurufen, wenig erfolgversprechend zu sein. Ganz ohne Aussichten erschien er jedoch nicht:

WALLRABE (zit. nach HARDER und BODE 1943) hat bei *Kalanchoë* Blüten erhalten, wenn täglich nach 9 Std Tageslicht 15 Std Schwachlicht (20 Lux) gegeben wurde, die Pflanzen also im Dauerlicht standen. Auch MELCHERS (1956) berichtet, daß bei *Kalanchoë* in einer Kontrollgruppe eines Versuches im Dauerlicht Blüten auftraten, und die Kurztagpflanzen *Soja* und *Perilla* kommen unter Umständen ebenfalls im Dauerlicht zur Blüte (s. HAUPT 1954); *Perilla* z. B. dann, wenn die Lichtintensität relativ niedrig gehalten wird (DE ZEEUW 1954).

Im folgenden Versuch wurden zwei Lichtintensitäten verwandt, eine hohe (2000 Lux ± 200, Leuchtstoffröhren), bei der die Rhythmik, wie vorher festgestellt, unter der Einwirkung von Temperaturcyclen stark ausgeprägt ist (Abb. 9 oben), und eine niedrige (50 Lux ± 10), die vielleicht, entsprechend den Versuchen WALLRABES und DE ZEEUWS, doch eine bessere Induktionswirkung zeitigen würde. Es mußte damit gerechnet werden, daß der Blühimpuls im Dauerlicht nur sehr gering sein würde. Deshalb wurde den 2000-Lux-Pflanzen zum Teil ein zusätzlicher schwacher photoperiodischer Blühimpuls gegeben: Eine Gruppe bekam vor der Einschaltung des Dauerlichtes 5 Kurztage, eine andere Gruppe 3 Kurztage; die dritte 2000-Lux-Gruppe (18 Pflanzen statt 9 wie in den vorigen Gruppen) wurde wie die 50-Lux-Gruppe ohne vorherige Kurztagbehandlung in das Dauerlicht gestellt. So konnte sich eine etwaige geringe Induktionswirkung im Dauerlicht mit der von 5 bzw. 3 Kurztagen summieren und einen vermehrten Blüheffekt geben.

Unter denselben Temperaturbedingungen (20/15° im Wechsel 9:15 = 9 Std 20°, 15 Std 15°, hergestellt durch Umschalten der Klimakammer) wurden drei Dauerdunkelgruppen mit vorher gebotenen 5, 3 und 0 Kurztagen angesetzt; sie standen in derselben Klimakammer unter Dunkelstürzen. Diese Dunkelstürze waren etwa 1 m hoch und hatten unten und oben lichtdichte Öffnungen, so daß ein gewisser Luftaustausch gewährleistet war. Die Dauerdunkelgruppen wurden nicht täglich gegossen, sondern einige Male im Laufe des 7wöchigen Versuches „getaucht", d. h., die Töpfe wurden bis zur Wassersättigung in Wasser gestellt. Diese Bewässerung erfolgte bei sehr schwachem grünen Licht (weniger als 1 Lux etwa 15 min je Gruppe). — Die gleichen 3 Starklicht-, 1 Schwachlicht- und 3 Dauerdunkelgruppen gab es auch in zwei Parallelen, die sich von dem oben beschriebenen Versuch dadurch unterschieden, daß statt der Wechseltemperatur von 20° zu 15° konstante Temperatur von 20 bzw. 15° herrschte. Der Versuch mit der Wechseltemperatur dauerte 7 Wochen, die Parallelversuche mit konstanter Temperatur 5 Wochen. Eine Kontrolle (je eine Gruppe mit 5, 3 und 0 Kurztagen) stand im Gewächshaus.

Bei Versuchsende waren die Blätter der Dauerstarklichtgruppen (besonders die obersten) gelbgrün und einige waren abgefallen (je Pflanze etwa 4 von 24), die der Schwachlichtgruppen waren dunkelgrün und sahen gesund aus. Die Dauerdunkelgruppen hatten ebenfalls Blätter abgeworfen; an den obersten drei Internodien waren die Blattpaare gelblich gefärbt, sie ergrünten aber nach Versuchsende im Gewächshaus in wenigen Tagen.

Die Versuchsergebnisse kann man aus Tabelle 4 entnehmen: Im Dauerlicht trat weder bei Wechseltemperatur (20/15°) noch bei konstanter Temperatur (20 bzw. 15°) Blütenbildung ein. Ein durch 5 Kurztage gegebener Blühimpuls wirkte sich aber bei niedrigen Temperaturen (15°; 20/15°, worin 15 Std 15° enthalten sind) etwas besser aus als im Gewächshausklima. Bei nur 3 Kurztagen traten noch einige „vegetative Inflorescenzen" auf.

Tabelle 4. *Blütenbildung nach einer Induktion im Dauerlicht und Dauerdunkel*

„Vegetative Inflorescenzen" sind bei den blühenden Pflanzen zusätzlich (in Klammern) aufgeführt und in der Blütenzahl mit dem Wert 0,5 verrechnet. Die Wechseltemperatur (20/15°) wirkte 7 Wochen auf die Pflanzen, die konstante Temperatur (20 bzw. 15°) 5 Wochen[1].

| Versuchsbehandlung | Dauerlicht 2000 Lux | | | Dauerlicht 50 Lux | Dauerdunkel | | | Langtag im Gewächshaus | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kurztage vor Versuchsbeginn | 5 | 3 | 0 | 0 | 5 | 3 | 0 | 5 | 3 | 0 |
| Zahl der Pflanzen je Gruppe | 9 | 9 | 18 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 |
| Blühende Pflanzen 20° | 5 (3) | 1 (5) | 0 (3) | 0 | 9 | 9 | 0 (2) | | | |
| 15° | 9 | 1 (4) | 0 (1) | 1 | 9 | 9 | 8 | | | |
| 20°/15° | 7 (2) | 0 (3) | 0 (1) | 0 (1) | 9 | 9 | 8 | | | |
| Gewächshaus | — | — | — | — | — | — | — | 8 | 3 (2) | 0 |
| Blütenzahl je Pflanze 20° | 1,7 | 0,4 | 0,08 | 0 | 227,3 | 212,3 | 0,1 | | | |
| 15° | 35,3 | 0,3 | 0,03 | 0,1 | 185,7 | 223,2 | 126,1 | | | |
| 20°/15° | 37,9 | 0,2 | 0,03 | 0,06 | 207,0 | 195,9 | 155,3 | | | |
| Gewächshaus | — | — | — | — | — | — | — | 2,8 | 0,4 | 0 |

[1] Die Zeit bis zum Sichtbarwerden der Blütenstandsanlagen ist nicht mit aufgeführt, da sie in den Dauerdunkelgruppen während der Dunkelzeit nicht bestimmt werden konnte. Die Blütenstandsanlagen erschienen in den Dauerdunkelgruppen ohne vorherige Kurztagbehandlung z. T. während der Dunkelzeit, meist aber einige Tage oder Wochen danach.

Anders liegen die Verhältnisse im Dauer*dunkel*: 5 und 3 Kurztage brachten an Pflanzen, die nachher einige Wochen lang im Dauerdunkel standen, etwa 200 Blüten hervor. (SCHMITZ [1951] hatte festgestellt, daß Dauerdunkel vor einer Kurztagperiode den Blühimpuls vergrößert.) Aber im Dauerdunkel wird *auch ohne vorher gegebene Kurztage* bei *Kalanchoë* Blütenbildung ausgelöst, und zwar bei tiefen Temperaturen (15°, 20/15°), nicht aber bei hohen (20°). Im Temperaturwechsel 20/15° war die Blütenzahl etwas größer; daraus darf aber wohl noch nicht der Schluß gezogen werden, daß hier die Induktionswirkung größer ist als bei 15°, um so weniger, als der Temperaturwechselversuch 7 Wochen dauerte, der 15°-Versuch aber nur 5 Wochen.

Der beschriebene Versuch hat also nicht zu dem Ergebnis geführt, daß im Dauerlicht durch tagesperiodische Temperaturcyclen Blütenbildung ausgelöst werden kann. Andere Cyclen, etwa der von 20/10° (Abb. 9 Mitte), in dem das Öffnungsmaximum in die Phase hoher

Temperatur fällt — im Gegensatz zum Cyclus 20/15° —, wurden nach diesem entmutigenden Resultat nicht untersucht.

Die Induktion im Dauerdunkel jedoch wurde in einigen weiteren Versuchen wiederholt, wobei vor allem die Beleuchtung mit grünem Licht während der Wassergabe vermieden wurde; das „Tauchen" fand in völliger Dunkelheit statt. Die Versuche wurden bei 15, 20 und 25° ausgeführt und dauerten 3, 5 und 7 Wochen. Dabei zeigte sich in allen Fällen, daß bei 20 und 25° keine Blütenbildung im Dauerdunkel zu erzielen war sondern nur bei 15°; der Blühimpuls war bei 7 Wochen Dunkelheit größer als bei 5 und 3 Wochen. Der Effekt war dabei nicht immer gleich stark ausgeprägt: Von den Gruppen, die 5 Wochen lang Dauerdunkel von 15° ausgesetzt waren, kam eine überhaupt nicht zur Blüte (dieser Versuch war im Dezember angesetzt, einem Monat, der wegen der ungünstigen Wachstumsverhältnisse — Vor- und Nachkultur im Gewächshaus bei geringen Lichtintensitäten — für Induktionsversuche nicht sehr günstig ist), in einem zweiten Versuch blühten von 9 Pflanzen 2 und in zwei weiteren Versuchen hatten 8 von 9 Pflanzen Blüten.

Die Versuche lassen vermuten, daß man bei geringer Änderung der Versuchsbedingungen zu noch einheitlicheren, d. h. stets positiven Ergebnissen kommen könnte. Es ist keineswegs sicher, daß für die Induktion im Dauerdunkel die optimale Temperatur mit 15° und die optimale Versuchsdauer mit 5 oder 7 Wochen gegeben ist. Auch wird, wie bei *Xanthium* (Hamner 1939), die Art der Vor- und Nachbehandlung der Versuchspflanzen von Einfluß sein. Hierüber jedoch läßt sich erst nach weiteren Versuchen Genaueres sagen.

## C. Besprechung

In der vorliegenden Arbeit wurde stets davon ausgegangen, daß die Blütenblattbewegung von *Kalanchoë* den Verlauf der endogenen Tagesrhythmik widerspiegelt. Nach allen bisherigen Befunden liegt auch kein Grund vor, an der Richtigkeit dieser Annahme zu zweifeln.

Einzig die im experimentellen Teil beschriebene Tatsache, daß Licht, welches in eine „skotophile" Phase fällt (angezeigt durch ein Öffnungsminimum der Blüten), trotzdem blühfördernd wirken kann, könnte man als ein Anzeichen dafür betrachten, daß der Verlauf der endogenen Tagesrhythmik und der der Blütenbewegung nicht in jedem Fall übereinstimmt. Doch müßten gerade diese Verhältnisse noch eingehender untersucht werden. Die Unstimmigkeit kann ja schon dadurch überwunden werden, daß man, wie es hier geschieht (s. unten), Bereiche mehr oder minder großer Blühförderung des Lichtes im Verlauf der eTR und nicht solche einer Blühhemmung annimmt.

Auch im folgenden wird daher der Verlauf der endogenen Tagesrhythmik mit dem der Blütenblattbewegungskurve gleichgesetzt.

*Periodenlänge im Dauerdunkel.* Die Temperaturabhängigkeit der Periodenlänge der endogenen Tagesrhythmik ist bisher am eingehendsten an *Phaseolus multiflorus* untersucht worden (s. auch Einleitung). Die *Kalanchoë*-Blütenblätter (s. Tabelle 1) reagierten im ganzen ähnlich wie die Primärblätter dieser Pflanzen: Die erste Periode nach Übertragung der Pflanzen in verschieden hohe Temperaturen war um so länger, je tiefer die Temperatur lag (für *Phaseolus* s. BÜNNING 1932 und 1958, S. 30, LEINWEBER 1956). In den folgenden Perioden wurde diese „positive Temperaturabhängigkeit" vermindert, blieb aber bei *Kalanchoë* [im Gegensatz zu *Phaseolus* (LEINWEBER 1956)] zwischen 20, 25 und 30° noch bestehen, während bei 15° die Rhythmik so stark beschleunigt wurde, daß eine schwache „negative Temperaturabhängigkeit" zwischen 15 und 20° auftrat: Die Perioden waren bei 15° in der 2.—6. Periode kürzer als bei 20°. Die anfängliche Verzögerung im Ablauf der eTR bei 15° wurde dadurch wieder aufgeholt („kompensiert") und die an sich schon schwache Temperaturabhängigkeit der Periodenlänge ($Q_{10} = 1{,}2$ in der ersten Periode) noch weiter verringert, nämlich bis auf einen $Q_{10}$ von 1,1 und weniger.

Die Temperaturgrenzen der tagesperiodischen Bewegung bei *Kalanchoë* glichen ebenfalls denen von *Phaseolus* (13 und 30° bzw. 10 und 30°), das Verhalten in tiefen Temperaturen war jedoch unterschiedlich: Bei ungefähr 10° treten bei *Phaseolus* „Kurzschwingungen" mit einer Periodenlänge von 8—18 Std auf (BÜNNING und TAZAWA 1957), die *Kalanchoë*-Blütenblätter (Abb. 2) blieben dagegen starr.

Die in einem weiten Bereich geringe Temperaturabhängigkeit der endogenen Tagesrhythmik kann als eines ihrer Hauptmerkmale gelten; sie wurde auf die Beteiligung mehrerer Vorgänge mit unterschiedlichen Temperaturkoëffizienten zurückgeführt (s. SCHWEMMLE 1953, BÜNNING und TAZAWA 1957). Ein weiterer Hinweis darauf ist der Ablauf der Blütenblattbewegung von *Kalanchoë* im Dauerdunkel bei verschiedenen Temperaturen: Unter konstanten Bedingungen (vgl. Abb. 2) liefen bei *Kalanchoë* die Prozesse, die zur Blütenschließung führen, bei hohen Temperaturen beschleunigt ab, bei tiefen verlangsamt, und die Prozesse, die eine Blütenöffnung zur Folge haben, waren bei tiefen Temperaturen beschleunigt und bei hohen verlangsamt.

Über *Auslösung und Steuerung der endogenen Tagesrhythmik durch Temperaturwechsel* ist weniger bekannt als beispielsweise über die Temperaturabhängigkeit der Periodenlänge.

SCHMIDLE (1951) und UEBELMESSER (1954) induzierten durch Temperaturänderungen eine Sporangienabschußrhythmik bei *Pilobolus*, und BÜHNEMANN (1955) gibt an, daß die Sporulationsrhythmik von *Oedogonium* durch einen Temperaturwechsel von 27,5/25° gesteuert werden kann. Die Bewegungen der Primär-

blätter von *Phaseolus* sind ebenfalls durch Temperaturcyclen regulierbar, und zwar im Dauerlicht (Pfeffer 1907) sowohl wie im Dauerdunkel (Stern und Bünning 1929). Ausgelöst wird die Bewegungsrhythmik bei *Phaseolus* im Dunkeln außer durch einen Lichtreiz auch durch einen Wärmereiz (Bünning 1932); Cremer (1923) gibt dafür ein Beispiel.

Der Befund, daß bei *Kalanchoë* ein Temperaturwechsel nur im Dauerlicht die Rhythmik auslöst, könnte wohl so erklärt werden, daß im *Dauerdunkel* für eine Auslösung die energetischen Voraussetzungen fehlen, die im *Dauerlicht* gegeben sind. Mangelnde Energieversorgung könnte auch ein Grund für das schnelle Abebben der Rhythmik in hohen Temperaturen im Dauerdunkel sein, und geringer Energieverbrauch bei tiefen Temperaturen könnte die Ursache sein für das verhältnismäßig wenig geschwächte Auftreten der Rhythmik nach 9tägigem Aufenthalt der Pflanzen in 5°.

*Endogene Tagesrhythmik und Blühinduktion bei verschiedenen Temperaturen.* Wie in den früheren Arbeiten (Bünsow 1953a, b, Schwemmle 1957 und in Vorbereitung) lassen sich zwischen dem Bewegungsablauf der Blüten und den Ergebnissen der Induktionsversuche Parallelen ziehen.

Zum Beispiel wurde (Abb. 11 und 12) die Öffnungsbewegung der Blüten (Kurvenanstieg), die bei 10° noch in die Lichtzeit fällt, mit steigender Temperatur vorverlegt, und in gleicher Weise stieg die Blütenzahl mit der Behandlungstemperatur an. Der bei 30° wieder geringere Blüherfolg paßte sich diesem Schema nicht ohne weiteres an, während die Bewegungskurve bei 35° (keine Blütenblattbewegung) mit den Blühergebnissen (keine Blüten) wieder gut übereinstimmte. In ähnlicher Weise läßt sich die Induktionswirkung bei 20° in den Cyclen 9:15 und 12:12 mit den entsprechenden Bewegungskurven vergleichen. Dabei fällt auf, daß im Cyclus 12:12, im Gegensatz zum Cyclus 9:15, die zweite Hälfte der Schließbewegung noch in die Lichtzeit fiel. Bünsow (1953a) hat daraus, da gleichzeitig der Blüherfolg praktisch Null wird, den Schluß gezogen, daß die etwa 3 Lichtstunden, die in die Endphase der Schließbewegung treffen, die gleiche blühhemmende Wirkung haben, wie die vorhergehenden 9 Lichtstunden eine fördernde. Dieser Schluß kann für 25° nicht gelten, denn im Cyclus 12:12 kam es bei 25° noch zur Blütenbildung, obwohl auch hier die Schließbewegung in die Lichtzeit fiel.

Vielleicht könnte aber die Abhängigkeit der Induktionsstärke von der Temperatur besser durch folgendes Schema (durch das die Frage der Mitwirkung der eTR am Zustandekommen der Blühreaktion nicht berührt wird) gedeutet werden (s. hierzu auch Harder u. Mitarb. 1942 und 1943, Melchers und Lang 1948, Nanda und Hamner 1959): Danach benötigen die bei Kurztagpflanzen obligatorisch in der Dunkelheit ablaufenden physiologischen Prozesse, die zur Blütenbildung führen, eine Mindestzeit, die bei höherer Temperatur kürzer sein kann als bei tiefer. Bei 25° genügen für diese Prozesse bei *Kalanchoë* 12 Std Dunkelheit (im Cyclus 12:12), bei 20° dürften 12 Std gerade die Mindestlänge der Dunkelzeit darstellen (geringer Blüherfolg im Cyclus 12:12)

und bei 15° schließlich reichen 12 Std nicht mehr aus für den ungestörten Ablauf der Dunkelprozesse, wohl aber 15 Std (Blütenbildung im Cyclus 9:15). Bei 10° sind auch 15 Std noch zu wenig; es wäre interessant festzustellen, ob in Cyclen mit längerer Dunkelzeit als 15 Std auch bei 10° noch eine Blühinduktion möglich wäre. Der geringe Blüherfolg bei 30° wäre evtl. dadurch zu erklären, daß bei dieser Temperatur andere chemische Prozesse, die mit den vorher zitierten Dunkelprozessen konkurrieren, die Oberhand gewinnen.

Die Versuche, in denen die Pflanzen Licht nur in der „skotophilen Phase" der eTR (angezeigt durch geschlossene Blüten) bekamen, das aber, entgegen der Erwartung trotzdem zu einer, wenn auch schwachen, Blütenbildung führte, lassen sich auch mit der Zusatzhypothese von Bünsow (1953a, b) nicht erklären. Bünsow hat angenommen, daß bei *Kalanchoë* unter Bedingungen, die zu starker Epinastie führen (also Senkung der Blütenblätter = Kurvenanhebung, z. B. in Cyclen mit langen Dunkelzeiten), Licht in jedem Falle blühfördernd wirkt, gleichgültig, in welcher Phase der eTR es den Pflanzen geboten wird. Die Null-Linie der Bewegungskurven sollte dabei die Grenze der blühfördernden und blühhemmenden Wirkung des Lichtes darstellen, so daß unter Bedingungen, die nur positive Meßwerte bei der Blütenblattbewegung ergeben, keine Blühhemmung durch Licht mehr auftritt. Die Kurvenunterteile der hier wichtigen Bewegungskurven (Abb. 13 und 16) sind zwar etwas angehoben, sie befinden sich aber zum großen Teil noch unter der Null-Linie. Nach Bünsow müßte Licht zur Zeit der Minima *hemmend* auf die Blütenbildung wirken, was nicht der Fall ist. Wenn man bei *Kalanchoë* auch weiterhin einen gleichsinnigen Verlauf der (durch die Blütenblattbewegung angezeigten) eTR und der photoperiodischen Lichtwirkung annehmen will, müßte die erwähnte Zusatzhypothese dahingehend erweitert werden, daß ein Bewegungskurvenminimum nicht oder nicht immer eine skotophile Phase anzeigt sondern eine Phase verminderter Photophilie.

Die Frage, ob das Licht, das in die „skotophile Phase" der eTR fällt, in jedem Falle blühhemmende Wirkung hat, ist gerade an *Kalanchoë* häufiger untersucht worden. Für den 24 Std-Cyclus konnten Harder und Bode (1943) eine Blühhemmung eines solchen „Störlichtes" nachweisen, die im 9:15stündigen Licht-Dunkel-Wechsel um so größer war, je mehr es in die Mitte der Dunkelzeit, das Maximum der „skotophilen Phase" (Bünning 1950) fiel. Im 48 Std-Cyclus (Licht nur an jedem 2. Tag) gab es zwei Zonen hemmender Wirkung des Lichtes, die durch ein Gebiet fördernder Wirkung getrennt waren (Bünsow 1953b). Diese zwei Zonen hemmender Wirkung des Lichtes, die zwei „skotophilen Phasen" in der Theorie der eTR von Bünning entsprechen, konnte man aber, wie auch das Maximum der Blühhemmung in der Mitte der Dunkelzeit im 24 Std-Cyclus, noch damit erklären, daß Licht nur immer in der Nachbarschaft der Hauptlichtzeit Blühimpuls-zerstörend wirkt, mit zunehmender Entfernung von der Hauptlichtzeit

aber nicht mehr (vgl. hierzu Claes und Lang 1947). Eine Klärung sollte die Wirkung des Störlichtes im 72 Std-Cyclus bringen, in dem die Hauptlichtperiode nur an jedem 3. Tag gegeben wird. Entsprechende Versuche sind am beweiskräftigsten von Melchers (1956) durchgeführt worden. Melchers fand in der Mitte der 62stündigen Dunkelzeit einen Bereich, in dem Störlicht eine hemmende Wirkung auf die Blütenbildung hatte, der von den beiden anderen Blühhemmbereichen am Anfang und Ende der Dunkelzeit durch zwei Bereiche einer Blühförderung getrennt war. Einstündiges Licht, das in der Mitte der Dunkelzeit gegeben wurde, unterdrückte die Blütenbildung zwar nicht so stark wie Licht, das in die Nachbarschaft der Hauptlichtzeit fiel, die Blühreaktion war aber geringer als bei der Kontrollgruppe, die in der Dunkelzeit *kein* Störlicht erhielt. So schien der Schluß gerechtfertigt, daß Licht immer blühhemmend wirkt, wenn es in eine skotophile Phase der eTR fällt.

Nach dem Ergebnis der vorstehenden Versuche (S. 251—253) wäre noch folgende Deutungsmöglichkeit in Betracht zu ziehen: Zweistündiges Licht, das in eine skotophile Phase fällt, verschiebt nach Abb. 16 die Bewegungsrhythmik bei Fehlen einer Hauptlichtzeit so, daß 24 Std später eine photophile Phase auftritt statt einer skotophilen, wie es bei geregeltem Ablauf der eTR sein müßte. Selbst in einem 24 Std-Cyclus, in dem die Rhythmik *täglich* wieder neu durch die Hauptlichtzeit einreguliert wird, beeinflußt bei *Kalanchoë* Störlicht von nur 15 min Dauer ihren Verlauf (Bünsow 1953a). Danach könnte man die blüh„hemmende" Wirkung des Lichtes in der Mitte der 62stündigen Dunkelzeit mit einer Verschiebung der Rhythmik durch das Störlicht erklären; in der Hauptlichtzeit fällt dadurch Licht in eine weniger photophile Phase und es tritt eine verminderte Blütenbildung ein. „Blühhemmung" wäre dann also als eine verminderte Blühförderung aufzufassen.

*Blühinduktion im Dauerdunkel.* Der für die Theorie der Blütenbildung bei *Kalanchoë* wichtige Befund einer Auslösung der Blütenbildung im Dauerdunkel war um so unerwarteter, als es Harder und Gümmer (1947) nicht gelungen war, *Kalanchoë* im Dauerdunkel zum Blühen zu bringen[1]. Vielleicht lag in diesen Versuchen von Harder und Gümmer die Versuchstemperatur für eine Blühauslösung zu hoch, bei 20° kann ja im Dauerdunkel schon keine Blütenbildung mehr induziert werden.

Blühinduktion im Dauerdunkel ist auch an anderen Pflanzen gefunden worden. Leopold (1949) beobachtete Anlegung von Blüten an Kartoffeln, Erbsen und Bohnen, die alle von der Keimung an im Dauerdunkel gehalten waren. Entsprechendes fanden bei Verwendung künstlicher Nährböden mit Zuckerzusatz

[1] Nach mündlicher Mitteilung von Prof. Harder wurde der Versuch im Laufe von Jahren mehrmals wiederholt, u. a. auch mit sehr großen, alten Pflanzen, die viel Reservematerial in ihrem Stamm enthielten. Er verlief jedoch immer negativ bis auf ein einziges Mal. Da sich das Ergebnis später jedoch nicht reproduzieren ließ und sich keine Ursache für den positiven Ausfall ermitteln ließ, wurde auf seine Veröffentlichung verzichtet.

GENTCHEFF und GUSTAFSSON (1940) bei Erbsen und Spinat, SUGINO (1957) bei Sommerweizen. *Xanthium pennsylvanicum* (HAMNER 1939), *Hyoscyamus niger* (LANG 1941), *Perilla crispa* (LONA 1949) und *Beta vulgaris* (FIFE und PRICE 1953) können ebenfalls durch Dauerdunkel zum Blühen gebracht werden; bei *Xanthium* läßt sich die Wirkung der Lichtperiode, die der einzigen zur Blühauslösung nötigen Langnacht voraufgehen muß, durch Zuckergaben ersetzen (LIVERMAN und BONNER 1953).

Für eine Auslösung der Blütenbildung durch Dauerdunkel ist also Voraussetzung Zuckerzufuhr oder Anwesenheit von Reservestoffen (s. auch DE ZEEUW 1954). Letzteres dürfte für *Kalanchoë* zutreffen, die in ihrem Stamm Reservestoffe speichert. Dabei ist denkbar, daß im Dauerdunkel bei Temperaturen über etwa 20° zuviel von den Reservestoffen für andere Zwecke von der Pflanze verbraucht wird (Atmung, Restitutionsprozesse) und daher nicht genügend Material für die Vorgänge, die die Blütenbildung einleiten, zur Verfügung steht.

Über die Auslösung der Blütenbildung bei *Kalanchoë* läßt sich also nach allen bisher vorliegenden Experimenten zusammenfassend sagen:

1. Sie ist im Dauerdunkel möglich.

2. In geringem Maße wird Blütenbildung auch durch eine Lichteinwirkung zur Zeit des Blütenschlusses (maximale „Skotophilie") induziert.

3. Licht in der Nachbarschaft einer Hauptlichtzeit zerstört den von dieser ausgehenden Blühimpuls.

## Zusammenfassung

1. Die endogen-tagesrhythmischen Blütenblattbewegungen von *Kalanchoë* lassen sich im Dauerdunkel zwischen 13 und 30° während 4—7 Tagen beobachten.

2. Unter 13° wird ein den Blüten gegebener Bewegungsimpuls gespeichert, bei 5° z. B. mindestens 9 Tage lang, bis er sich in höherer Temperatur wieder auswirken kann.

3. Die Periodenlänge der endogenen Tagesrhythmik im Dauerdunkel (ungefähr 22 Std) ist zwischen 13 und 30° nur wenig von der Temperatur abhängig ($Q_{10}$ ungefähr = 1,1). Kompensationsprozesse spielen bei dieser geringen Temperaturabhängigkeit eine Rolle.

4. Der Übergang von Dauerlicht zu Dauerdunkel löst tagesperiodische Blütenblattbewegungen aus.

5. Im Dauerdunkel wird die Blütenblattbewegung durch einen Temperaturwechsel gesteuert.

6. 2 Std Licht, z. Z. der „skotophilen Phase" der endogenen Tagesrhythmik (angezeigt durch geschlossene Blüten) geboten, verschieben

die Rhythmik so, daß im darauffolgenden Dauerdunkel 24 Std später eine „photophile Phase" (angezeigt durch geöffnete Blüten) statt einer skotophilen folgt.

7. Im Dauerlicht von 100 Lux läßt sich bei 20° die Blütenblattbewegung mehrere Tage verfolgen, bei einigen 1000 Lux tritt nach kurzer Zeit „Lichtstarre" ein.

8. Bei 15, 25 und 30° wird die Bewegung der Blütenblätter im Dauerlicht schon nach kurzer Zeit undeutlich.

9. Im Dauerlicht lösen Temperaturcyclen an lichtstarren Blüten tagesperiodische Bewegungen aus, die sich bei konstanter Temperatur im Dauerlicht fortsetzen. Schon eine tägliche Temperaturschwankung von 1° ist wirksam. Die stärkste Blütenblattbewegung wurde im Temperaturwechsel 20°/15° bei 4000 Lux gefunden. Bei niedrigeren Intensitäten ist sie schwächer ausgeprägt.

10. In Licht-Dunkel-Wechseln hat die Temperatur einen wesentlichen Einfluß auf die Phasenlage der endogenen Tagesrhythmik.

11. Blühauslösung ist bei *Kalanchoë* im 9stündigen Kurztag zwischen 15 und 30° möglich, im 12stündigen Tag bei 25° und — in vermindertem Maße — bei 20 und 30°.

12. Im Dauerdunkel kann bei *Kalanchoë* Blütenbildung bei 15°, nicht aber bei 20 und 25° ausgelöst werden.

13. Im Dauerlicht wirkt ein tagesperiodischer Temperaturwechsel von 20/15° (9:15 Std), der den Ablauf der eTR begünstigt, nicht blühfördernd.

14. Licht, das nur in der „skotophilen Phase" (angezeigt durch geschlossene Blüten) geboten wird, kann Blütenbildung auslösen, jedoch bewirkt Licht in der photophilen Phase eine weit stärkere Blütenbildung.

Herrn Prof. Dr. R. HARDER möchte ich herzlich für die Anregung zu dieser Arbeit und seine ständige Förderung danken, Herrn Dr. B. SCHWEMMLE für viele Ratschläge und freundliche Hilfe und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für apparative Unterstützung.

## Literatur

BALL, N. G., and I. J. DYKE: An endogenous 24-hour rhythm in the growth rate of the *Avena coleoptile*. J. exp. Bot. **5**, 421 (1954). — BÜHNEMANN, F.: Das endodiurnale System der *Oedogonium*-Zelle III. Über den Temperatureinfluß. Z. Naturforsch. **10b**, 305 (1955). — BÜNNING, E.: Untersuchungen über die autonomen tagesperiodischen Bewegungen der Primärblätter von *Phaseolus*. Jb. wiss. Bot. **75**, 439 (1932). — Endonome Tagesrhythmik und Photoperiodismus bei Kurztagpflanzen. Biol. Zbl. **64**, 161 (1944). — Über die photophile und skotophile Phase der endogenen Tagesrhythmik. Planta (Berl.) **38**, 521 (1950). — Aktivitätswechsel. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. **2**, S. 840. Berlin-Göttingen-

Heidelberg: Springer 1956. — Die Physiologische Uhr. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958. — Tagesperiodische Bewegungen. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 17, S. 579. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959. — Bünning, E., u. M. Tazawa: Über den Temperatureinfluß auf die endogene Tagesrhythmik bei *Phaseolus*. Planta (Berl.) **50**, 107 (1957). — Bünsow, R.: Endogene Tagesrhythmik und Photoperiodismus bei *Kalanchoë blossfeldiana*. Planta (Berl.) **42**, 220 (1953a). — Über tages- und jahresrhythmische Änderungen der photoperiodischen Lichtempfindlichkeit bei *Kalanchoë blossfeldiana* und ihre Beziehungen zur endogenen Tagesrhythmik. Z. Bot. **41**, 257 (1953b). — Claes, H., u. A. Lang: Die Blütenbildung von *Hyoscyamus niger* in 48stündigen Licht-Dunkel-Zyklen und in Zyklen mit aufgeteilten Lichtphasen. Z. Naturforsch. **2b**, 56 (1947). Cremer, H.: Untersuchungen über die periodischen Bewegungen der Laubblätter. Z. Bot. **15**, 593 (1923). — de Zeeuw, D.: De invloed van het blad op de bloe. Diss. Wageningen 1954. — Fife, I. M., and Ch. Price: Bolting and flowering of sugar beets in continuous darkness. Plant Physiol. **28**, 475 (1953). — Gentcheff, G., and A. Gustafsson: The cultivation of plant species from seed to flower and seed in different agar solutions. Hereditas (Lund) **26**, 250 (1940). Zit. nach Ber. wiss. Biol. **54**, 39 (1940). — Hamner, K. C.: Interrelation of light and darkness in photoperiodic induction. Bot. Gaz. **101**, 658 (1939/40). — Harder, R.: Über photoperiodisch bedingte Organ- und Gestaltbildung bei den Pflanzen. Naturwiss. **33**, 41 (1946). — Vegetative and reproductive development of *Kalanchoë blossfeldiana* as influenced by photoperiodism. Sympos. soc. exp. biolog. Number II, Growth p. 117, Cambridge 1948. — Über die endogene Tagesrhythmik der Fermentaktivität, Guttation und Blütenbewegung bei *Kalanchoë blossfeldiana* und *Phaseolus multiflorus*. Nachr. Akad. Wiss. Göttingen, math.-physik. Kl., Biol.-Physiol.-Chem. Abt. 1949, 1. — Harder, R., u. O. Bode: Über die Wirkung von Zwischenbelichtungen während der Dunkelperiode auf das Blühen, die Verlaubung und die Blattsukkulenz bei der Kurztagspflanze *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Planta (Berl.) **33**, 469 (1943). — Harder, R., O. Bode u. H. v. Witsch: Über Wechselbeziehungen zwischen Blütenbildung, Brakteenverlaubung und Sukkulenz der Laubblätter bei *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Flora (Jena) **36**, 85 (1942). — Harder, R., u. G. Gümmer: Über die untere kritische Tageslänge bei der Kurztagspflanze *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Planta (Berl.) **35**, 88 (1947). — Harder, R., H. v. Witsch u. O. Bode: Über Erzeugung einseitig und allseitig verlaubter Infloreszenzen durch photoperiodische Behandlung von Laubblättern (Untersuchungen an *Kalanchoë Bloßfeldiana*). Jb. wiss. Bot. **90**, 546 (1942). — Haupt, W.: Blütenbildung einer Kurztagpflanze im Dauerlicht. Naturwiss. **41**, 340 (1954). — Kalmus, H.: Über die Natur des Zeitgedächtnisses der Bienen. Z. vergl. Physiol., Abt. C **20**, 405 (1934). — Lang. A,: Über die Bedeutung von Licht und Dunkelheit in der photoperiodischen Reaktion von Langtagpflanzen. Biol. Zbl. **61**, 427 (1941). — Leinweber, F. J.: Über die Temperaturabhängigkeit der Periodenlänge bei der endogenen Tagesrhythmik von *Phaseolus*. Z. Bot. **44**, 337 (1956). — Leopold, A. C.: Flower initiation in total darkness. Plant Physiol. **24**, 530 (1953). — Liverman, J. L., and J. Bonner: Biochemistry of the Photoperiodic response. The High-Intensity-Light Reaction. Bot. Gaz. **115**, 121 (1953). — Lona, F.: La fioritura delle brevidiurne a notte continua. Nuovo Giorn. bot. ital. N. S. **56**, 479 (1949). Zit. nach de Zeeuw 1954. — Melchers, G.: Die Beteiligung der endonomen Tagesrhythmik am Zustandekommen der photoperiodischen Reaktion der Kurztagpflanze *Kalanchoë blossfeldiana*. Z. Naturforsch. **11b**, 544 (1956). — Melchers, G., u. A. Lang: Die Physiologie der Blütenbildung. Biol. Zbl. **67**, 105 (1948). — Nanda, K. K., and K. C. Hamner:

The effect of temperature, auxins and some other chemicals on the endogenous rhythm affecting photoperiodic response of *Biloxi soybean* (glycine max. L; Merr). Planta (Berl.) **53**, 53 (1959). — Pätau, K.: Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen. (Eine neue t-Tafel.) Biol. Zbl. **63**, 152 (1943). — Pfeffer, W.: Untersuchungen über die Entstehung der Schlafbewegungen der Blattorgane. Abh. kgl. sächs. Ges. Wiss., math-physik. Kl. **30**, 257 (1907). Zit. nach Bünning 1959. — Rünger, W.: Über den Einfluß der Temperatur und der Lichtintensität auf die photoperiodische Reaktion und die Blütenentwicklung von *Kalanchoë blossfeldiana* Poellnitz c. v. Tom Thumb I. Gartenbauwiss. **2** (**20**), 485 (1956). — Über den Einfluß der Temperatur und der Lichtintensität auf die photoperiodische Reaktion und die Blütenentwicklung von *Kalanchoë blossfeldiana* Poellnitz c. v. Tom Thumb II. Gartenbauwiss. **5** (**23**), 282 (1958a). — Über den Einfluß der Temperatur und der Lichtintensität auf die photoperiodische Reaktion und die Blütenentwicklung von *Kalanchoë blossfeldiana* Poellnitz c. v. Tom Thumb III. Gartenbauwiss. **5** (**23**), 294 (1958b). — Schmidle, A.: Die Tagesperiodizität der asexuellen Reproduktion von *Pilobolus sphaerosporus*. Arch. Mikrobiol. **16**, 80 (1951). — Schwemmle, B.: Über die tagesperiodischen Änderungen des Reaktionsvermögens von Keimpflanzen auf niedrige Temperatur. Planta (Berl.) **43**, 98 (1953). — Zur Temperaturabhängigkeit der Blütenbildung und der endogenen Tagesrhythmik bei *Kalanchoë blossfeldiana*. Naturwiss. **44**, 356 (1957). — Stern, K., u. E. Bünning: Über die tagesperiodischen Bewegungen der Primärblätter von *Phaseolus multiflorus* I. Der Einfluß der Temperatur auf die Bewegungen. Ber. dtsch. bot. Ges. **47**, 565 (1929). — Sugino, M.: Flower initiation of the spring wheat in total darkness. Bot. Mag. (Tokyo) **70**, 369 (1957). Zit. nach Ber. wiss. Biol. **128**, 175 (1959). — Uebelmesser, E. R.: Über den endonomen Rhythmus der Sporangienträgerbildung von *Pilobolus*. Arch. Mikrobiol. **20**, 1 (1954). — Went, F. W.: The effect of temperature on plant growth. Ann. Rev. Plant. Physiol. **4** (1953).

Dr. O. Oltmanns,
Institut für Entwicklungsphysiologie, Köln-Lindenthal, Gyrhofstr. 17

Planta 54, 265—293 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen

# EXPERIMENTELLE BEEINFLUSSUNG DER ORGANBILDUNG AN IN VITRO KULTIVIERTEN BLATTSTÜCKEN VON *BEGONIA REX*

Von

KLAUS WIRTH

Mit 16 Textabbildungen

*(Eingegangen am 24. Oktober 1959)*

## Einleitung

Die Bildung von Sprossen und Wurzeln an abgetrennten Blättern und Blattstücken von *Begonia rex* ist eine schon lange bekannte und viel untersuchte Erscheinung. Trotzdem findet sich noch bei SACHS (1874) eine falsche Darstellung des Vorgangs: Er glaubte noch an endogene Entstehung der Sprosse. Erst REGEL (1876) wies die endogene Bildung der Wurzeln aus Zellen des Pericykels und die exogene Entstehung der Sprosse aus Epidermiszellen nach. HARTSEMA (1926) und PREVOT (1939) bringen keine wesentlichen neuen Ergebnisse mehr. Die ältere Literatur findet sich dort ausführlich besprochen, die neuere bei LENSKI (1958).

Da es sich bei der Organbildung an den Begonienblattstücken nicht um eine Entfaltung ruhender Anlagen handelt, sondern jede Epidermiszelle wieder embryonal werden kann und zur Bildung einer Adventivknospe fähig ist, wird vielfach die Bezeichnung „Regeneration" für diesen Vorgang abgelehnt. Man spricht besser von „Neubildung" (HARTSEMA). Auffällig ist, daß die Neubildungen am Blattstück stets am basalen Ende des Blattnerven entstehen. Das legt die Annahme nahe, daß bestimmte im Leitbündel vorhandene und geleitete Stoffe die Ursache für die Auslösung der Neubildung darstellen.

Es erschien deshalb zweckmäßig, die Neubildungsreaktion unter genau bekannten äußeren Bedingungen neu zu untersuchen. Genau definierte Einwirkung bestimmter Dosen von Wuchsstoffen und anderen Substanzen war möglich bei steriler Kultur der Blattstücke in vitro. Da bisher nur in wenigen Arbeiten Kultur von Blattstücken in vitro beschrieben wurde (TUREL und HOWES 1956, LENSKI 1958), mußte eine geeignete Methode erst erprobt werden. Die von GAUTHERET (1942) und WHITE (1953) ausgearbeiten Methoden zur Kultur pflanzlicher Gewebe und Organstücke in vitro waren jedoch in der von MAYER (1956) abgewandelten Form auch für die Kultur von Blattstücken von *Begonia rex* sehr gut geeignet.

## Material und Methode

Für die Kultur in vitro wurden etwa 1 cm² große Stückchen von Blättern einer silberblättrigen Varietät von *Begonia rex* verwendet, die im Botanischen Garten Erlangen kultiviert wird. Die Sortenbezeichnung war nicht mehr festzustellen. Alle verwendeten Pflanzen waren durch vegetative Vermehrung aus dem gleichen Blatt gezogen worden. Da sich diese Sorte als sehr widerstandsfähig gegen die unten aufgeführten Desinfektionsmethoden erwies, wurden fast alle Versuche mit ihr durchgeführt. Zur Kontrolle wurden noch einige Reihen mit den Sorten „Dekorateur" und „Silberbraut"[1] angesetzt, die jedoch keine wesentlichen Abweichungen gegenüber der Standardsorte ergaben.

Die von MAYER (1956) beschriebene Methode zur Kultur von Stengel- und Knollensegmenten war wesentlich einfacher durchzuführen als die von LENSKI (1958) vorgeschlagene. Etwas abgewandelt war sie für eine Kultur von Blattstücken sehr gut geeignet.

Als Kulturgefäße verwendeten wir Reagensgläser 16/1,6 cm. Sie wurden mit heißem Prilwasser gespült, mit Aqua dest. nachgewaschen und bei 160° getrocknet. Nach Verschluß mit einem Wattepfropfen wurden sie zusammen mit der Nährlösung bei 1 atü 30 min sterilisiert. Hitzeempfindliche Substanzen wie Wuchsstoffe usw. wurden erst danach zugegeben und dann in jedes Glas 10 cm³ der fertigen Nährlösung eingefüllt. Das Nachsterilisieren erfolgte nach STICHEL (1959) im Thermostaten bei 80° 30 min lang. Der Befall war nicht höher als nach Sterilisation im Autoklaven, doch wurden die hitzelabilen Substanzen geschont. Voraussetzung dafür war allerdings, daß die Lösung möglichst heiß eingefüllt wurde. Bevor die Blattstücke eingelegt werden konnten, blieben die Gläser zum Abtrocknen noch 2 Tage im Zimmer stehen.

Die für die Versuche verwendeten Pflanzen wurden ohne jede Vorsichtsmaßnahme im Gewächshaus gehalten. Für die Ansätze verwendete Blätter wurden oberflächlich abgewaschen, nach Entfernung von Stiel und Blattgrund in größere Stücke zerschnitten und in einem großen Becherglas durch Überschichten mit dem Desinfektionsmittel keimfrei gemacht. Als Desinfektionsmittel wurden getestet Eau de Javelle und Sublimatlösung 0,01%. Die Blattstücke waren gegen beide Agentien außerordentlich widerstandsfähig; eine Desinfektionsdauer von 60 min wurde ohne merkliche Schädigung vertragen.

Der Befall wurde durch diese Behandlung bei Eau de Javelle auf 21%, bei Sublimat auf 10% herabgesetzt. Auch durch gemeinsame Anwendung dieser beiden Agentien konnte die Ausfallrate nicht mehr weiter reduziert werden. Der Prozentsatz der befallenen Kulturen war starken jahreszeitlichen Schwankungen unterworfen; gleiches hatte schon STICHEL (1959) bei *Cyclamen* beobachtet. Die beste Ausbeute an keimfreien Kulturen wurde im Frühjahr erzielt.

Nach Abgießen des Desinfektionsmittels wurden die Blätter dreimal mit sterilisiertem Wasser nachgewaschen und anschließend zwischen zwei Bogen sterilisiertes Filtrierpapier gelegt und ohne direkte Berührung mit den Fingern in 1 cm² große Stücke geschnitten. Festgehalten wurden die Stücke beim Schneiden mit dem Filtrierpapier.

Die Stücke wurden nun mit einer Kante — der basalen (normal) oder der apikalen (invers) — in die Nährlösung etwa 1 mm tief eingesteckt, so daß der größte Teil der Spreite allseitigem Luftzutritt ausgesetzt war und schnell abtrocknen konnte. Flachliegende Stücke wurden nicht verwendet, da sie sehr starke Neigung zur Nekrose zeigten.

[1] Zur Verfügung gestellt von der Großgärtnerei Robert Mayer, Bamberg.

Das Schneiden der Blätter und das Einlegen der Stücke in die Kulturgefäße erfolgte in der Impfkabine wie bei MAYER beschrieben. Pinzette und Skalpell wurden sterilisiert, indem sie $^1/_2$ min in der Gasflamme erhitzt und anschließend in Aqua steril. abgekühlt wurden. Nach jeweils 25 Stücken wurden Skalpell und Pinzette neu sterilisiert.

Nach dem Einlegen der Stücke wurden die Gläser wieder mit den Wattestopfen verschlossen und die Kulturgefäße ohne besondere Vorsichtsmaßnahmen in Gestellen zu 350 Stück im Gewächshaus aufgestellt. Die Beleuchtung war hell, aber diffus; direkte Sonnenbestrahlung schädigte die Stücke, bei Lichtmangel war das Wachstum sehr gehemmt. Die Temperatur lag durchschnittlich bei 25°, Schwankungen wirkten sich nicht nachteilig auf die Kulturen aus.

Mit der geschilderten Methode gelang es, bei Desinfektion mit Sublimat für die Dauer von 60 min, den Befall mit 10% ausgesprochen niedrig zu halten. Es ist erstaunlich, daß die Blattstücke diese Behandlung ohne jede Schädigung vertrugen. Auch durch Zugabe von 2,4-DNP (MAYER 1956) und Achromycin (STICHEL 1959) konnte keine weitere Verbesserung des Prozentsatzes der keimfreien Kulturen erzielt werden. Da besonders die Antibiotica sehr stark auf den Neubildungsprozeß einwirkten, war die Verwendung solcher Zusätze nicht möglich (s. S. 270). Auf eine Zugabe von Glucose konnte verzichtet werden, da die Stücke bei entsprechend heller Aufstellung sich selbst ernähren konnten. Auch war der Befall durch Bakterien und Pilze im glucosefreien Medium nur halb so groß wie im zuckerhaltigen.

Nun mußte noch versucht werden, in bezug auf die Organneubildung gleichwertige Blattstücke zu gewinnen. An größeren Stücken entstehen die Organe am basalen Ende des jeweils stärksten Nerven, bei kleineren von etwa 4 mm² — Größe der kleinsten noch ohne Schwierigkeit zu kultivierenden Stücke — wurden jedoch bei Abwesenheit größerer Nerven Neubildungen auch an makroskopisch nicht mehr sichtbaren feinsten Nervenenden angelegt. Wegen der kürzeren Reaktionszeit und der eindeutig polaren Anlage der Organe verwendeten wir nur solche Stücke, die an ihrer eingetauchten Kante nur eine einzige, mittelstarke Hauptnervenendigung aufwiesen. Das stärkste und schwächste Nervenende wurden verworfen. Am besten geeignet war eine Größe von 1 cm²; die Stücke reagierten gleichartig nach Zahl und Größe der Organe. Es wurden nur gesunde und voll ausgewachsene Blätter verwendet.

Die Ermittlung einer für die Kultur der Blattstücke geeigneten Nährlösung bot wegen der geringen Ansprüche der Stücke keine Schwierigkeiten. Getestet wurden die von SKOOG (1948) und HELLER (1953) vorgeschlagenen Nährlösungen, daneben Aqua dest. und Leitungswasser. Die entstandenen Organe waren auf allen vier Medien etwa gleich groß und in fast gleicher Zahl vorhanden. Es wurde schließlich der von HELLER vorgeschlagenen Nährlösung der Vorzug gegeben, da sie bei höheren Wuchsstoffgaben ein etwas besseres Wurzelwachstum ermöglicht. Durch Zugabe von 8 g/l Agar-Agar pulv. (Merck) erhielt der Nährboden die nötige Festigkeit.

Die durchschnittliche Laufzeit der Kulturen betrug 48 Tage; nach dieser Zeit wurden keine neuen Organe mehr angelegt, und die Reihen konnten ausgewertet werden. Dazu wurden die entstandenen Organe ausgezählt und auf die Gesamtzahl der ausgewerteten Stücke bezogen, auch wenn nicht an allen Neubildungen entstanden waren. Die Zahl der pro Blattstück gebildeten Organe war der Maßstab für die Wirkung eines untersuchten Stoffes.

Die Blattstücke konnten ohne Schwierigkeit noch länger kultiviert werden. Auch nach 120 Tagen waren die Stücke noch frisch und die entstandenen Sprosse und Wurzeln kräftig gewachsen. Längere Laufzeit als 48 Tage ist eigens angegeben.

## Ergebnisse

### I. Organbildung an normal eingesteckten Blattstücken

*1. Kontrollen* (Nährlösung HELLER ohne Zusätze)

Die Neubildungsreaktion erfolgt stets am Basalende des Blattnerven und ist in bezug auf Zahl und Größe der entstandenen Organe sehr gleichmäßig. Auch zeitlich stimmen die Stücke in ihrer Reaktion sehr gut überein. Nach etwa 12 Tagen ist das basale Nervenende leicht verdickt, was auf Callusbildung in den subepidermalen Schichten zurückzuführen ist. Die Verdickung wird stärker, und nach 16—18 Tagen brechen daraus kleine Wurzeln hervor. Nach etwa 20 Tagen sind

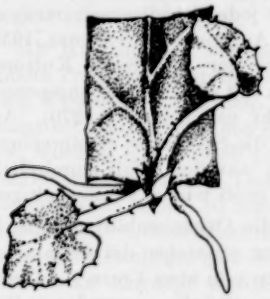


Abb. 1. Kontrollversuch, Blattstück normal eingesteckt

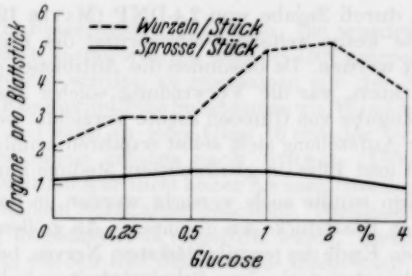



Abb. 2. Abhängigkeit der Organzahl von der Glucosekonzentration im Nährboden

Sprosse als kleine, höckerförmige Anlagen sichtbar. Nach 30 Tagen haben die Sprosse schon kleine Blätter mit einem Spreitendurchmesser von etwa 3 mm, nach 45 Tagen erfolgt nur noch weiteres Wachstum der bereits angelegten Organe, jedoch keine Neuanlage mehr. Nach einer Laufzeit von 48 Tagen wurde der Versuch ausgewertet. Ausgezählt wurden nur beblätterte Sprosse und aus dem Callushöcker des basalen Nervenendes hervorgebrochene Wurzeln, nicht ausgezählt dagegen Adventivwurzeln aus den neugebildeten Sprossen sowie unentwickelte, nicht sicher zu identifizierende Sproß- und Wurzelanlagen, die auch nach längerer Laufzeit nicht zur Entwicklung kamen. Im Durchschnitt waren an jedem Blattstück 1,12 Sprosse und 2,1 Wurzeln entstanden (Abb. 1).

*2. Bedeutung der Nährstoffkonzentration für die Organbildung*

GOEBEL (1908) und SIMON (1920) hielten den Einfluß der Nährstoffkonzentration auf die Organbildung für sehr bedeutend, wenn nicht überhaupt für ausschlaggebend. Zur Überprüfung dieser Annahme sowie zur Ermittlung optimaler Bedingungen für Neubildung und Wachstum der Organe wurden fünf Versuchsreihen mit Glucosegehalten der Nährlösung zwischen 0,25 und 4% angesetzt.

Die Stücke zeigten, wie zu erwarten war, besseres Wachstum und auch erhöhte Zahl der neugebildeten Organe gegenüber dem Kontrollnährboden. Die Zunahme der Organzahl dürfte auf ein Auswachsen von sonst unentwickelt bleibenden Organanlagen zurückzuführen sein. Den Einfluß der Glucosekonzentration auf die Zahl der angelegten Organe zeigt Abb. 2.

Die optimale Konzentration liegt bei 1% Glucose. Danach nimmt besonders die Sproßgröße wieder rasch ab, und bei 4% Glucose sind die Stücke bereits leicht geschädigt. Offenbar liegt der osmotische Wert der Lösung schon zu hoch, denn die Stücke zeigten Welkeerscheinungen.

Das Wachstum der Organe auf glucosefreien Nährböden war völlig ausreichend. Auf die geringe Wachstumsförderung durch Glucosegaben wurde verzichtet, da durch sie der Befall der Kulturen mit Pilzen und Bakterien auf das Doppelte erhöht wurde.

### *3. Dunkelkulturen*

Um den Einfluß des Lichts auf den Neubildungsvorgang festzustellen, wurde eine Reihe von Kulturen wie üblich angesetzt, aber im Dunkeln gehalten. Im Gegensatz zu dem Befund von Behre (1929) an *Drosera* erfolgte keine Organneubildung. Während dort auch im Dunkeln gehaltene, hungernde Blätter regenerierten, waren hier nach 46 Tagen von 27 Blattstücken 22 abgestorben, die übrigen 5 stark vergilbt. Insgesamt war nur eine einzige, winzige Wurzelanlage entstanden, es hatte also praktisch keine Organneubildung stattgefunden.

Durch Wuchsstoffgaben (NES 0,08 und 0,5 mg/l) konnte die Wirkung des Lichtmangels nicht kompensiert werden. Organbildung wurde auch hier nicht beobachtet. Auf die verdunkelten Stücke wirkte NES in den beiden sonst gut vertragenen Konzentrationen rasch toxisch.

Fast vollständig kompensiert wurde jedoch die Wirkung des Lichtmangels durch Zugabe von 1% Glucose zum Nährboden. Mit 1 Sproß und 1,45 Wurzeln pro Stück wurde fast die gleiche Zahl von Neubildungen wie bei den Hellkulturen erreicht. Alle Stücke waren gut erhalten und frisch grün, die entstandenen Sprosse jedoch bleich und etioliert. Die auf Nährböden mit Zusätzen von 0,08 und 0,5 mg/l NES kultivierten Stücke zeigten wie üblich reichliche Wurzel- und Callusbildung (s. S. 272).

Von den Wirkungen des Lichts ist also für die Organneubildung an den Blattstücken nur die Kohlenhydratbildung durch Assimilation von Bedeutung. Alle Assimilationsprodukte können durch Glucose ersetzt werden.

### *4. Einfluß von Antibiotica*

*α) Achromycin* (Lederle-Chemie). Stichel (1959) erzielte bei seinen Gewebekulturen mit Knollensegmenten von *Cyclamen* eine starke

Minderung des Bakterienbefalls bei Zugabe von Achromycin zur Nährlösung. Es wurde versucht, auf diese Weise auch den Befall der Begonienblattstücke unter den bei der Desinfektion mit Sublimat erreichten Wert herabzusetzen. Verwendet wurden Zusätze von 10, 25 und 50 mg/l Achromycin. Eine Minderung des Befalls wurde nicht erzielt, er betrug wie bisher 10%. Dagegen war die Beeinflussung der Organneubildung an den Stücken überraschend (Tabelle 1).

Tabelle 1. *Einfluß verschiedener Achromycinkonzentrationen auf den Neubildungsvorgang an normal eingesteckten Blattstücken*

| Versuchsdauer Tage | Achromycinkonzentration mg/l | Reaktion |
|---|---|---|
| 47 | 10 | Kräftige Verdickung des basalen Nervenendes, Sproßanlagen kleiner als 3 mm, ohne fertig ausgebildete Blätter |
| | 25 | Keine Reaktion, Stücke jedoch frisch grün |
| | 50 | Keine Reaktion, Stücke nicht geschädigt |
| 90 | 10 | Am basalen Nervenende sind kräftige Wurzeln und Sprosse üblichen Aussehens entstanden |
| | 25 | Von 14 Stücken sind 9 noch frisch grün, die übrigen leicht gelblich. Zwei Stücke haben kleine Anlagen gebildet, die übrigen zeigen keine Reaktion |
| | 50 | Von 14 Stücken sind 6 gut erhalten, Organbildung ist in keinem Fall erfolgt |
| 150 | 10 | Weiteres Wachstum der gebildeten Organe |
| | 25 | Von 14 Stücken sind 4 abgestorben, 4 haben kleine Organanlagen gebildet, die übrigen zeigen keine Reaktion |
| | 50 | Alle Stücke sind abgestorben; in keinem Fall erfolgte vorher Organbildung |

Während bei *Cyclamen* die Organbildung nicht beeinträchtigt wurde, erfährt sie bei *Begonia* bereits bei 10 mg/l eine beträchtliche Hemmung. Daß bei dieser Konzentration nach 90 Tagen doch noch kräftige Neubildungen auftreten, könnte auf einen inzwischen erfolgten Abbau des Achromycins zurückzuführen sein. Die teilweise bzw. vollständige Unterdrückung der Organneubildung bei höheren Achromycinkonzentrationen konnte auch durch Wuchsstoffgaben (NES) nicht aufgehoben werden. Bei längerer Einwirkung höherer Achromycingaben starben die Stücke fast sämtlich ab.

*β) Streptomycin.* Zur Kontrolle wurden noch Versuche mit den gleichen Konzentrationen eines anderen Antibioticums angesetzt, um festzustellen, ob Unterdrückung der Organbildung bei *Begonia rex* eine Eigenschaft aller Antibiotica ist. Die Wirkung des Streptomycins

ist jedoch von der des Achromycins völlig verschieden: Die Organbildung wird nicht unterdrückt. Doch werden die höheren Konzentrationen von den Stücken schlecht vertragen, denn die Organgröße nimmt ab. Außerdem nimmt in auffälliger Weise die Zahl der Sprosse zu, die der Wurzeln bis fast auf 0 ab.

| | | |
|---|---|---|
| Kontrollen | 1,12 Sprosse | 2,1 Wurzeln/Stück |
| Streptomycin 10 mg/l | 2,15 Sprosse | 1,85 Wurzeln/Stück |
| Streptomycin 25 mg/l | 2,8 Sprosse | 0,18 Wurzeln/Stück |
| Streptomycin 50 mg/l | 5,5 Sprosse | 0,1 Wurzeln/Stück |

Versuche mit anderen Antibiotica wurden nicht angestellt. Wegen der nicht verbesserten Ausbeute an keimfreien Kulturen wurde bei den folgenden Reihen auf solche Zusätze verzichtet.

### *5. Einfluß von organbildenden Substanzen*

Daß die Organbildung chemisch induziert werden kann, dürfte sicher sein (Skoog und Tsui 1948, Mayer 1956, Stichel 1959). Es ist die Induktion jedoch nicht nur eine Frage der Qualität, sondern in sehr starkem Maße auch der Quantität der verwendeten Agentien. Eine Untersuchung der Wirkung organbildender Stoffe in abgestuften Konzentrationen auf Blattgewebe steht noch aus. Sie wurde deshalb an den Begonienblattstücken durchgeführt. Verwendet wurden die Wuchsstoffe NES, IES und 2,4-D sowie die Purine Adenin und Guanin, deren Fähigkeit zur Organbildung an anderen Objekten schon nachgewiesen wurde.

Die angegebenen Kulturen waren je zur Hälfte im Frühjahr und Spätherbst 1958 angesetzt worden. Dabei ergaben sich gewisse Unterschiede in der Zahl und Größe der gebildeten Organe, vor allem wurden höhere Konzentrationen im Herbst wesentlich schlechter vertragen als im Frühjahr. Die Verträglichkeitsgrenze für Wuchsstoffe und Purine lag im Frühjahr bis zu 8mal höher als im Herbst. Die Organe waren im Herbst kleiner und weniger zahlreich als im Frühjahr, und zwar wurden die Unterschiede mit zunehmender Konzentration größer.

Wahrscheinlich ist dies eine Folge der verschlechterten Wachstumsbedingungen: Im Herbst war es wegen der geringeren Sonneneinstrahlung in dem Gewächshaus beträchtlich kühler und auch dunkler als im Frühjahr und Sommer. Eine Klimakammer stand für die Versuche leider nicht zur Verfügung. Um einen gewissen Mittelwert zu erhalten, wurden die Frühjahrs- und Herbstwerte addiert.

**a) Wuchsstoffe.** Wegen der sehr guten Wasserlöslichkeit des Kaliumsalzes und der Beständigkeit gegen Hitze und Licht war von den Wuchsstoffen für die Kultur in vitro NES am besten geeignet. Daneben wurde IES verwendet, da es den nativen Wuchsstoff darstellt und seine Reaktion deshalb besonders von Interesse ist. Schließlich wurde wegen seiner bei anderen Objekten beobachteten oft abweichenden Reaktion auch 2,4-D untersucht.

*α) α-Naphthyl-Essigsäure (NES).* Die Stücke wurden auf Nährböden gezogen, die den Wuchsstoff in Konzentrationen von 0,01 bis 10 mg/l enthielten. Bis zu einer Dosis von 0,5 mg/l wurde NES gut vertragen. Von dieser Konzentration ab färbte sich ein immer größerer

Prozentsatz der Stücke gegen Ende der Versuchszeit gelb. Bei 5 mg/l wirkte NES teilweise, bei 10 mg/l vollständig toxisch. Die betroffenen Stücke waren nach 48 Tagen fast vollständig abgestorben. Die Organbildung wird von einem NES-Zusatz ab 0,02 mg/l deutlich beeinflußt. Die Änderung in der Zahl der angelegten Organe zeigt Abb. 3.

*Callusbildung.* Schon bei den Kontrollen wurde Callusbildung (Verdickung des eingetauchten basalen Nervenendes, s. S. 268) beobachtet. Niedrige Wuchsstoffgaben bis etwa 0,2 mg/l verstärkten diese Verdickung des basalen Nervenendes, das bis etwa Stecknadelkopfgröße anschwellen kann. Bei höheren NES-Gaben breitete sich die Verdickung über den ganzen eingetauchten Spreitenbezirk aus. Der Callus blieb bis 1 mg/l von der Epidermis bedeckt, erst bei noch höheren Gaben traten auch freie Callushäufchen auf, die die Epidermis durchbrochen hatten. Hier machte sich jedoch schon die schädigende Wirkung der NES geltend: Gegen Ende der Versuchszeit starb der Callus unter Braunfärbung ab.

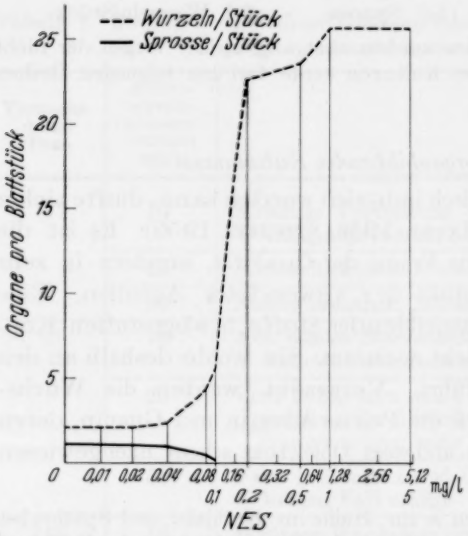



Abb. 3. Einfluß der NES auf die Organzahl am basalen Ende normal eingesteckter Stücke

Der bei diesen Versuchen gebildete Callus ist chlorophyllarm und seine Menge, verglichen mit der bei anderen Objekten erzielten, gering. Eine Förderung des Calluswachstums durch Glucosegaben war möglich, wurde aber nicht in größerem Umfang durchgeführt. Callusbildung war stets die zuerst zu beobachtende Reaktion der Blattstücke. Organbildung erfolgte nur an den Stellen, wo sich auch Callus — wenn auch oft nur in geringen Mengen — gebildet hatte.

*Sproßbildung.* Förderung des Wachstums oder Erhöhung der Zahl der angelegten Sprosse wurde in keinem Fall beobachtet. Ab 0,04 mg/l NES nehmen sowohl die Zahl der sproßbildenden Segmente als auch Zahl und Größe der angelegten Sprosse rasch ab (Abb. 3). Bei höheren NES-Gaben als 0,1 mg/l werden überhaupt keine Sprosse mehr angelegt.

*Wurzelbildung.* Bis 0,02 mg/l NES zeigt sich kein Unterschied gegenüber den Kontrollen. Bis 0,1 mg/l erfolgt langsame Zunahme der Wurzelzahl; es ist dies der gleiche Konzentrationsbereich, in dem die Sproßzahl langsam abnimmt. Über 0,1 mg/l nimmt die Zahl der

gebildeten Wurzeln schlagartig zu; die Sproßbildung ist nun völlig unterdrückt. Bereits bei 0,2 mg/l erfolgt Wurzelbildung aus der ganzen eingetauchten Kante (Abb. 4). Bei dieser NES-Konzentration erfolgt auch das beste Wachstum der Wurzeln. Bei noch höheren NES-Gaben werden zwar die gebildeten Wurzeln noch etwas zahlreicher, doch schon bei 1 mg/l läßt ihre Größe erheblich nach. Bei 5 mg/l wird eine Länge von 1 mm kaum mehr erreicht, die Schädigung durch den Wuchsstoff ist bereits zu stark

*β) β-Indolyl-Essigsäure (IES).* Skoog und Tsui (1951) stellten in der Wirkung von NES und IES nur quantitative Unterschiede fest. Auch hier reagierten beide

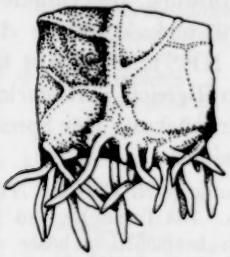


Abb. 4

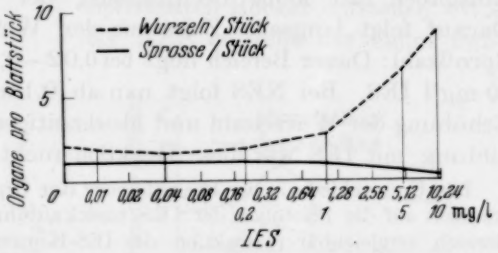



Abb. 5

Abb. 4. NES normal, 0,5 mg/l: Die Sproßbildung ist unterdrückt, zahlreiche Wurzeln sind entstanden

Abb. 5. Einfluß der IES auf die Organzahl am basalen Ende normal eingesteckter Stücke

Wuchsstoffe durchaus ähnlich. Bei dem Vergleich der IES und NES in ihrer Wirkung auf die Begonienblattstücke muß jedoch die starke Photolyse des Heteroauxins berücksichtigt werden. Auf die Möglichkeit, diesen Abbau durch Zugabe von Ascorbinsäure zu hemmen (Brauner 1953), mußte jedoch verzichtet werden, da die Ascorbinsäure allein schon eine gewisse Abweichung von den Kontrollen hervorrief (leichte Erhöhung der Sproß- und Wurzelzahl). Um die Photolyse wenigstens in den Stammlösungen möglichst einzuschränken, wurden diese im Dunkeln angesetzt und aufbewahrt sowie stets nur ganz frisch verwendet.

Untersucht wurden Konzentrationen von 0,01—10 mg/l IES. In allen verwendeten Konzentrationen wurde IES sehr gut vertragen; die Blattstücke blieben bis zum Versuchsende frisch grün. Den Einfluß auf die Organbildung zeigt Abb. 5.

*Callusbildung.* Sie erfolgt in ganz ähnlicher Weise, aber in noch geringerer Menge als bei NES-Zusatz. Schon ab 0,04 mg/l IES beginnt die Verdickung vom basalen Nervenende auf die ganze eingetauchte Kante überzugreifen. In allen Fällen, sogar bei den höchsten IES-Gaben, ist die Menge des entstandenen Callus sehr gering.

*Sproßbildung.* Bis 0,2 mg/l IES erfolgte gegenüber den Kontrollen keine wesentliche Änderung in Zahl und Größe der angelegten Sprosse. Bei höheren Konzentrationen nimmt dann zuerst die Größe und ab 1 mg/l auch die Zahl der gebildeten Sprosse rasch ab, ohne daß es jedoch

zu völliger Unterdrückung der Sproßanlagen kommt. Auch bei 10 mg/l IES, der höchsten untersuchten Konzentration, bildete noch ein Teil der Blattstücke am basalen Nervenende kleine Sprosse aus.

*Wurzelbildung.* Erst bei Gaben über 0,2 mg/l IES erfolgte stärkere Beeinflussung der Wurzelbildung. Bis 1 mg/l IES steigt die Zahl der entstandenen Wurzeln langsam, darüber etwas rascher an. Die Wurzeln wachsen sehr viel schwächer als bei NES-Zugabe. Bei den höheren Konzentrationen werden sie wieder kleiner, bei 10 mg/l IES sind sie kaum größer als 1 mm.

Ähnlich wie bei NES ist auch bei IES im Bereich niedriger Wuchsstoffgaben fast keine Beeinflussung der Organbildung festzustellen. Darauf folgt langsame Zunahme der Wurzelzahl und Abnahme der Sproßzahl: Dieser Bereich liegt bei 0,02—0,1 mg/l NES und bei 0,04 bis 10 mg/l IES. Bei NES folgt nun ab 0,1 mg/l ein Bereich mit starker Erhöhung der Wurzelzahl und gleichzeitiger Unterdrückung der Sproßbildung, mit IES war diese Reaktion nicht zu erzielen.

Die Unterschiede in der Beeinflussung der Organbildung durch IES und NES könnten auf die Photolyse der IES zurückzuführen sein. Die Tatsache, daß im Bereich vergleichbarer Reaktion die IES-Konzentration beträchtlich höher als die der NES lag, legt diese Deutung nahe. Quantitativ war dieser IES-Abbau nicht zu erfassen; es konnte also jeweils nur die zugegebene, nicht aber die tatsächlich vorhandene Menge der IES angegeben werden. Für quantitative Vergleiche der Wirkung von IES und NES können die angegebenen Werte also nicht verwendet werden.

Wesentlich ist, daß die Wirkung beider Wuchsstoffe in allen untersuchten Konzentrationen auf die eingetauchten Spreitenbezirke beschränkt blieb.

*γ) 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D).* Als dritter Wuchsstoff wurde 2,4-D in Konzentrationen von 0,01—5 mg/l untersucht. Die Wirkung war sehr stark und charakteristisch, die Abwandlung der normalen Neubildungsreaktion zeigt Abb. 6. Bereits in geringerer Menge als NES schädigte 2,4-D die Stücke sehr stark. Bei 1 mg/l starben einige, bei 5 mg/l fast alle Stücke gegen Ende der Versuchszeit ab.

*Callusbildung.* Wie üblich erfolgt Verdickung des eingetauchten Nervenendes. Schon ab 0,04 mg/l wird der ganze eingetauchte Spreitenbereich durch Callusbildung leicht verdickt. Ab 0,2 mg/l steigt 2,4-D auch im Nerven hoch und ruft Zellteilungen und dadurch starke Anschwellung des Nerven auf der ganzen Länge hervor. Die Epidermis wird jedoch nicht durchbrochen; durch den darunterliegenden Callus zeigt sie leicht höckerförmige Struktur. Ab 1 mg/l tritt an der eingetauchten Kante auch freier Callus in lockeren Zellhäufchen auf, doch ist hier die toxische Wirkung der 2,4-D bereits so stark, daß gegen Versuchsende der Callus und die ganze eingetauchte Kante braun gefärbt und weitgehend abgestorben sind.

Charakteristisch für 2,4-D ist das Auftreten halbkugeliger, kompakter Gebilde auf dem eingetauchten Spreitenbezirk. Sie erreichen einen Durchmesser bis etwa $^1/_2$ mm und entstehen bei Konzentrationen über 0,04 mg/l 2,4-D. Ihre Zahl nimmt mit zunehmender Konzentration beträchtlich zu, so daß sie schließlich gehäuft auftreten.

Bei anatomischer Untersuchung zeigte sich ein beträchtlicher Unterschied zwischen dem bei NES und IES einerseits und dem bei 2,4-D gebildeten Callus. Dort ist der eingetauchte Teil der Spreite ziemlich gleichmäßig verdickt, hier dagegen ist der Callus ungleichmäßig stark, wodurch auf dem eingetauchten Spreitenteil Höcker entstehen. Wie bei NES entsteht der Callus sub-

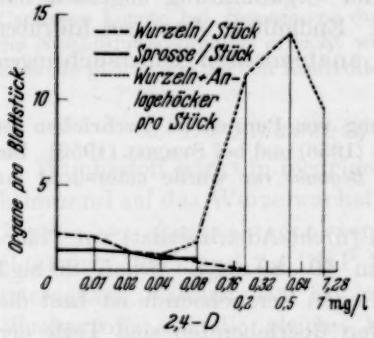



Abb. 6. Einfluß der 2,4-D auf die Organzahl am basalen Ende normal eingesteckter Stücke

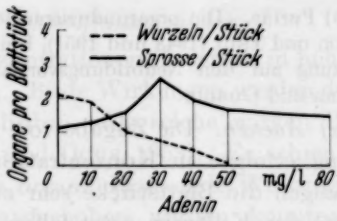



Abb. 7. Einfluß des Adenins auf die Organzahl am basalen Ende normal eingesteckter Stücke

epidermal, hier aber außerdem durch perikline Teilungen in der Epidermis. Es wurden beobachtet alle Übergänge zwischen normaler Blattstruktur über lokale Verdickung durch Callus aus 1—2 Zellschichten bis zu solcher aus 8—10 Schichten: Dort war dann bereits warzenartige lokale Verdickung der Spreite zu beobachten (Höckerbildung). Bei noch größeren Höckern waren in dem Callus schon unregelmäßig verteilte Gefäße vorhanden, bei vielen schon regelrechte Leitbündel. Eine klare Abgrenzung der einzelnen Stadien gegeneinander war nicht möglich.

*Sproßbildung.* Beeinflussung der Sproßbildung erfolgte in der gleichen Weise wie bei den anderen Wuchsstoffen. Bis 0,02 mg/l zeigte sich keine Veränderung gegenüber den Kontrollen. Bei höheren Gaben gingen Sproßzahl und -größe zurück, ab 0,2 mg/l wurden überhaupt keine Sprosse mehr angelegt. In bezug auf die Sproßbildung besteht also kein Unterschied gegenüber NES.

*Wurzelbildung.* Im Gegensatz zu dem Verhalten bei IES- und NES-Zugabe nimmt die Zahl der Wurzeln, die in Gestalt und Wachstum mit den bei den Kontrollen gebildeten übereinstimmen, mit zunehmender Konzentration ab, und zwar in gleicher Weise wie die Zahl der Sprosse (Abb. 6). Ab 0,2 mg/l 2,4-D traten auf dem eingetauchten Spreitenbezirk

nur noch die schon beschriebenen halbkugeligen Höcker auf. Es besteht jedoch Berechtigung, die größeren von ihnen als — abweichend gestaltete — Wurzeln aufzufassen, denn sie besitzen ein regelrechtes Leitbündel. Für diese Annahme spricht auch, daß außerhalb der Nährlösung entstandene Wurzeln beim Einwachsen in das 2,4-D-haltige Medium eine Umwandlung der Spitze zur gleichen halbkugeligen Form erfahren und ihr Wachstum einstellen.

Wenn die größeren dieser höckerförmigen Bildungen als Wurzelanlagen gewertet und zu den Wurzeln normalen Aussehens addiert werden, so stimmt die Abwandlung der Organbildung ungefähr mit der bei NES erfolgten überein (Abb. 6). Endgültige Aussagen hierüber können jedoch erst nach eingehenden anatomischen Untersuchungen gemacht werden.

**b) Purine.** Die organinduzierende Wirkung von Purinen ist beschrieben bei SKOOG und TSUI (1948 und 1951), bei MAYER (1956) und bei STICHEL (1959). Die Wirkung auf den Neubildungsvorgang bei *Begonia rex* wurde untersucht für Adenin und Guanin.

*α) Adenin.* Die Zugabe von Adenin (nicht Adeninsulfat) zur Nährlösung erfolgte in Konzentrationen von 10—80 mg/l. Schon 80 mg/l schädigen die Blattstücke sehr stark: Gegen Versuchsende ist fast die Hälfte der Kulturen ausgefallen. An den überlebenden sind Teile der Spreite abgestorben. Höhere Adeningaben wirkten rasch toxisch. Die Beeinflussung der Organzahl zeigt Abb. 7. Mit zunehmender Adeninkonzentration ging die Größe der angelegten Neubildungen zurück, das Adenin dürfte also eine ganz allgemein wachstumshemmende Wirkung haben.

*Callusbildung.* Callus entstand bei Adeninzugabe in Form starker knolliger Verdickungen am eingetauchten basalen Nervenende. Diese bestehen aus chloroplastenreichem Parenchym, das von Leitelementen unregelmäßig durchzogen ist und in das kleinzellige Bereiche eingeschaltet sind. Die Menge des Callus nimmt mit steigender Adeninkonzentration zu, bei den höchsten Gaben breitet er sich über die ganze eingetauchte Kante aus.

*Sproßbildung.* Die Zahl der angelegten Sprosse steigt bis zu einem Maximum bei 30 mg/l Adenin, um dann wieder abzunehmen. Ihre Entwicklung wird jedoch von steigenden Adeningaben zunehmend gehemmt; bei 40 mg/l sind sie schon fast durchwegs kleiner als 2 mm, bei 80 mg/l erreichen sie nicht einmal mehr die Größe von 1 mm. In allen Fällen entspringen die Sprosse aus dem basalen Nervenende oder aus dem Callus der eingetauchten Kante.

*Wurzelbildung.* Anlage und Wachstum von Wurzeln werden durch Adenin mit zunehmender Konzentration immer stärker gehemmt. Schon bei 50 mg/l ist die Wurzelbildung fast völlig unterdrückt.

Sehr charakteristisch für Adenin ist die Unterdrückung der Wurzelbildung. Es fehlt dem Adenin also nicht nur die Fähigkeit, Wurzelbildung zu induzieren, sondern es kann sogar normalerweise erfolgende Wurzelbildung unterdrücken. Die Zahl der angelegten Sprosse wird bis auf mehr als das Doppelte erhöht, das Wachstum aller gebildeten Organe ist durch Adenin aber in jedem Fall gehemmt. Der bei Adeninzugabe gebildete Callus ist ausgesprochen chlorophyllreich und weicht in seinem Aussehen von dem bleichen Callus der Wuchsstoffkulturen auffällig ab.

*β) Guanin.* Die Zugabe erfolgte wie bei MAYER (1956) durch Suspendieren des schwerlöslichen Guanins in der Nährlösung. Im Gegensatz zu dem Befund an *Cyclamen* konnte bei *Begonia rex* durch das Guanin keine stärkere Beeinflussung des Neubildungsvorgangs erreicht werden. Die Größe der gebildeten Organe war etwa die gleiche wie bei den Kontrollen, ihre Zahl nur ganz unbedeutend erhöht.

### *6. Die Einwirkung von Wuchsstoffantagonisten*

Wuchsstoff wirkt in niedrigen Konzentrationen fördernd, in höheren hemmend auf das Wurzelwachstum ein. Beide Wirkungen werden durch Zugabe von Auxinantagonisten aufgehoben. Als solche wirken PCIB (LIBBERT 1957) und 2,4-DNP (POHL und OCHS 1953). Es schien uns interessant, festzustellen, ob auch die organinduzierende Wirkung des Wuchsstoffs auf die gleiche Weise aufgehoben werden konnte. Zu diesem Zweck wurden die beiden genannten Wuchsstoffantagonisten der Nährlösung zugesetzt und ihr Einfluß auf die Neubildungsreaktion beobachtet.

*α) α-Chlorphenoxyisobuttersäure (PCIB)*[1]. LIBBERT (1957) hält PCIB für ein ideales Antiauxin. Es wurden Konzentrationen von 0,02 bis 20 mg/l untersucht. Niedrige Konzentrationen (0,02 und 0,2 mg/l) bewirkten schwache Wachstumshemmung: Die Organgröße war gegenüber den Kontrollen etwas zurückgeblieben. Bei 2 mg/l setzte die Reaktion verspätet ein, bei Versuchsende waren die hier gebildeten Organe kleiner als bei den Kontrollversuchen, und auch ihre Zahl war herabgesetzt. Diese Hemmung ist jedoch wahrscheinlich auf eine bereits bei dieser PCIB-Konzentration starke Schädigung zurückzuführen. Diese Annahme legt der Befund bei 20 mg/l nahe: Die Stücke bleiben ohne Neubildungen, große Spreitenabschnitte sind von der eingetauchten Kante her abgestorben. Höhere PCIB-Gaben wirkten rasch toxisch.

Das verspätete Einsetzen der Reaktion bei 0,2 und 2 mg/l PCIB legte die Vermutung nahe, daß die Reaktion erst nach Abbau der im Nährboden befindlichen PCIB einsetzt. Es wurden deshalb 2 Reihen mit diesen Konzentrationen angesetzt und die Blattstücke alle 10 Tage auf frischen Nährboden umgesteckt. Die Organbildung konnte jedoch auch auf diese Weise nicht unterdrückt werden. Es scheidet hier die Möglichkeit aus,

[1] Für die Übersendung der PCIB danke ich Herrn Prof. Dr. BURSTRÖM, Lund.

daß die PCIB im Nährboden bereits vor Versuchsende abgebaut wird. Die Wirkung der PCIB besteht also — neben der allgemeinen Schädigung der Blattstücke — in einer Hemmung der Neubildungsreaktion. Ob auch diese Hemmung nur eine Folge der allgemein schädigenden Wirkung der PCIB ist, kann nicht sicher gesagt werden.

Schließlich wurde noch PCIB (0,2 und 2 mg/l) kombiniert mit NES-Gaben bekannter Wirkung (0,08, 0,5 und 5 mg/l) gegeben. Es war jedoch keine eindeutige Minderung der aus den Wuchsstoffversuchen (s. S. 271) bekannten NES-Wirkung festzustellen. Die Wirkung der NES auf den Neubildungsvorgang wird also durch PCIB nicht kompensiert.

*β) 2,4-Dinitrophenol (2,4-DNP).* Nach POHL und OCHS (1953) hebt 2,4-DNP in Konzentrationen, in denen es — allein getestet — keine Wirkung zeigt, den Einfluß von Wuchsstoff auf das Wachstum von Kressewurzeln auf. Es wurden Zusätze von 0,02—20 mg/l untersucht. Bis 0,2 mg/l zeigte sich keine Beeinflussung der Neubildungsreaktion; bei 2 mg/l wurde zwar die Größe, nicht aber die Zahl der gebildeten Organe etwas herabgesetzt. Wahrscheinlich ist das aber die Folge beginnender Schädigung, die sich bei 20 und 200 mg/l zu teilweise bzw. vollständig toxischer Wirkung steigert.

Die Versuche mit PCIB und 2,4-DNP legen beide die gleiche Deutung nahe. Entweder ist der Wuchsstoff nicht an der Anlage der Neubildungen beteiligt, oder es sind die Methoden, durch die Wuchsstoffwirkung auf das Wurzelwachstum aufgehoben werden kann, bei dem ganz anderen Wirkungsschema der Organanlage nicht anwendbar. Eine eindeutige Aussage lassen die Befunde nicht zu.

## II. Überprüfung der Polarität bei der Organanlage

Es war auffällig, daß die Neubildung von Organen stets nur am basalen Nervenende erfolgte. An invers eingestellten Blattstücken wurde nun untersucht, ob diese Polarität in der Neubildungsanlage in allen Fällen zuverlässig ausgeprägt war.

### *1. Invers eingestellte Stücke in Wasser*

PREVOT (1939) gibt an, daß bei inversem Einstellen von Blattstücken in Wasser Organbildung auch am apikalen Nervenende zu beobachten ist, die Polarität also auf diese einfache Weise aufgehoben werden kann.

Zur Nachprüfung des Befundes wurden die desinfizierten Blattstücke (1 $cm^2$ Größe wie üblich) mit dem apikalen Nervenende nach unten in Präparategläser 12 mm ∅ eingesetzt und bis etwa $^1/_3$ Blattstückhöhe sterilisiertes Wasser eingefüllt. Das Wasser verdunstete sehr rasch und mußte öfter nachgefüllt werden. Das konnte jedoch ohne

besondere Vorsichtsmaßnahmen geschehen, die Kulturen wurden deswegen nicht von Pilzen befallen.

Nach einer Laufzeit von wie üblich 48 Tagen waren bei allen Stücken kräftige Neubildungen am freien basalen Nervenende entstanden, die in ihrer Größe kaum gegenüber den an normal eingesteckten Stücken entstandenen zurückgeblieben waren. In keinem Fall wurde Neubildung am eingetauchten Apikalende beobachtet.

Da von PREVOT für den obenerwähnten Versuch größere Blattstücke verwendet worden waren, lag es nahe, den Unterschied der Ergebnisse auf die Blattstückgröße zurückzuführen. Der Versuch wurde deshalb wiederholt mit Blattstücken 20×40 mm, die in gleicher Weise in 1 cm hoch mit Wasser gefüllte Präparategläser eingestellt wurden. Angesetzt wurden 14 Kulturen, davon 7 im Frühjahr und 7 im Spätherbst. Sämtlich bildeten sie kräftige Sprosse und Wurzeln am freien Basalende. Darüber hinaus waren am eingetauchten Apikalende bei 3 Stücken kräftige Neubildungen entstanden, an 2 Stücken Organanlagen unter 1 mm Größe, während die übrigen Stücke dort keine Reaktion zeigten. Es ist also die Polarität in der Neubildungsanlage bei größeren Stücken nicht so zuverlässig ausgeprägt wie bei kleinen; eine sichere Erklärung dieser Tatsache kann noch nicht gegeben werden.

Abb. 8. Kontrollversuch, Blattstück invers eingesteckt

Um diese an größeren invers eingestellten Blattstücken unregelmäßig zu beobachtende Abweichung von den normalen Polaritätsverhältnissen auszuschalten, wurde für alle folgenden Versuche mit invers eingesteckten Blattstücken nur die Größe 10×10 mm verwendet, bei der in keinem Fall eine solche Unregelmäßigkeit beobachtet wurde.

### *2. Kontrollen auf Agarnährböden, Nährlösung Heller*

Um Werte zu erhalten, die mit den an normal eingesteckten Stücken gewonnenen Ergebnissen vergleichbar sind, wurden alle folgenden Versuche mit invers eingesteckten Blattstücken auf Agarnährboden und unter den gleichen Bedingungen wie bei der Kultur normal eingesteckter Stücke ausgeführt.

Bei 61 Kulturen von invers eingesteckten Stücken zu 10×10 mm entstanden Neubildungen nur am freien Basalende, auch wenn die Laufzeit bis zu 100 Tagen verlängert wurde. In ihrem Aussehen wichen die hier gebildeten Organe stark von den am Basalende der normal eingesteckten Kontrollen gebildeten ab (Abb. 8). Die Länge sowohl der Sprosse als auch der Wurzeln überschritt nur selten 1 mm. Größere Blätter wurden normalerweise nicht ausgebildet. Die Anlagen entstanden in etwas größerer Zahl als am eingetauchten Basalende; ein klarer Unterschied zwischen ausgewachsenen und unentwickelten

Anlagen bestand bei den gehäuft stehenden Anlagen des freien Basalendes nicht.

Dieser Unterschied war jedoch nur auf die schlechtere Wasserversorgung der invers eingesteckten Stücke zurückzuführen. Sobald nämlich, was ab und zu vorkam, eine Wurzel des freien Endes in den Nährboden eingedrungen war, wuchsen die dortigen, stark zurückgebliebenen Organe rasch zu der Größe der bei den normal eingesteckten Kontrollen gebildeten heran. Bei den in Wasser invers kultivierten Stücken wuchsen die Anlagen des freien Basalendes wegen des höheren Wasserdampfgehaltes der Luft in den Präparategläsern sofort aus.

Am freien Basalende werden mehr Organe gebildet als am eingetauchten. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, daß das Auswachsen eines Sprosses die neben ihm entstandenen Anlagen hemmt. Erfolgt nun kein stärkeres Wachstum der angelegten Organe, wie dies am freien Basalende der Fall ist, so fällt diese gegenseitige Hemmung der Anlagen weg, und sie bleiben alle auf etwa gleicher Entwicklungsstufe stehen. Für diese Annahme spricht, daß nach Eintreten besserer Wasserversorgung auch hier nur 1 Sproß und 2 Wurzeln/Segment wie bei den normal eingesteckten Kontrollen zu normaler Größe heranwachsen.

## III. Beziehung zwischen Stofftransport im Siebteil und Organanlage

Schon HABERLANDT (1913) und LAMPRECHT (1918) beobachteten, daß nur dann Zellteilungen einsetzen, wenn das kultivierte Gewebestück Siebteilelemente enthält. Auch HARTSEMA (1926) stellte fest, daß die Teilungen direkt in der Nachbarschaft der Siebröhren einsetzen und erst dann bis zu den Zellen der Epidermis fortschreiten, was ebenfalls für die Diffusion eines Teilungsreizes aus dem Siebteil spricht. Daß dieser Teilungsreiz von einem im Siebteil geleiteten Stoff ausgehen muß, wiesen schließlich JABLONSKI und SKOOG (1954) nach, als sie feststellten, daß auch wäßriger Extrakt aus dem Leitgewebe sowie Cocosmilch und Malzextrakt im Markgewebe von *Nicotiana* Zellteilungen auslösen können.

Hier wie auch bei *Drimiopsis* (LENSKI 1958) erinnert die Polarität bei der Neubildungsanlage an die Verhältnisse bei *Begonia rex*. Die Annahme liegt nahe, daß diese Polarität auf den polaren Stofftransport im Siebteil zurückzuführen ist, der dann bei Unterbrechung der Leitung zur Stauung und damit zu einer Anreicherung der geleiteten Substanzen am basalen Nervenende führt. Diese Annahme konnte sehr leicht experimentell bewiesen werden.

### *1. Zerstörung des Siebteils durch Eosin*

Eine Möglichkeit, den Siebteil ohne Zerstörung des Blattes außer Funktion zu setzen, bot die von SCHUMACHER (1930) angegebene Methode der Eosinbehandlung. In nur wenig abgeänderter Form war sie auch für *Begonia rex* sehr gut brauchbar.

Von einem ausgewachsenen Blatt wurde unter Wasser der Rand abgeschnitten, um die Leitbündel zu öffnen. Darauf wurde das Blatt, das während der ganzen Behandlung an der Pflanze verblieb, in einem verdunkelten Standzylinder mit Eosin 1:25000 überschichtet. Die Eosinbehandlung dauerte 48—72 Std, darauf

wurde das Blatt abgeschnitten und daraus wie üblich Blattstückkulturen hergestellt, die auf Kontrollnährboden gesetzt wurden. Der Siebteil der Stücke ist blockiert, und es findet keine Assimilatleitung mehr statt. Man kann das erkennen an der erheblichen Stärkespeicherung, die auf der ganzen Nervenlänge im leitbündelnahen Parenchym erfolgt.

In diesen Stücken ohne Leitung im Siebteil werden die Neubildungen nicht mehr streng am basalen Nervenende angelegt, sondern Sprosse und Wurzeln entstehen regellos verteilt über die ganze Nervenlänge, teilweise bis zu 6 Sprosse hintereinander.

Das Eosin gelangt bei dieser Versuchsanordnung über die behandelten Blätter auch in die Leitungsbahnen des Sprosses und tritt nach etwa 40 Std in die Hauptnerven junger Blätter ein, was dort an Absterbeerscheinungen im Leitbündelbereich schon äußerlich zu erkennen ist. In keinem Fall wurde jedoch beobachtet, daß das Eosin in den Siebteil älterer, bereits ausgereifter Blätter gelangt wäre.

Abb. 9. Blatt mit Eosin 1:25000 behandelt und an der Pflanze belassen. Zustand nach 3 Monaten: Auf den Hauptnerven sind zahlreiche Sprosse entstanden

Das Eosin schädigt je nach dem Alter des Blattes, auf das es einwirkt, das Blattgewebe verschieden stark. Behandelt man ältere, ausgereifte Blätter mit Eosin, so ruft es nur ein Zusammenfallen der Siebröhren hervor, ohne die übrigen Blattgewebe entscheidend zu schädigen. Gelangt dagegen bei der Behandlung älterer Blätter Eosin auch in die Leitbündel junger Blätter, so tötet es dort die ganzen Leitbündel samt anliegendem Gewebe ab. Für die meisten ist die Schädigung zu stark, und sie fallen ab.

Es wurden aber immer wieder junge Blätter beobachtet, die zwar indirekt unter Eosineinfluß geraten waren und bei denen die Eosinbehandlung zu einem Absterben des Siebteils geführt hatte, die aber trotzdem noch an der Pflanze verblieben. Die Wasserleitung war bei

dieser Behandlung nicht beeinträchtigt worden, die Blätter blieben voll turgeszent, und sie wuchsen zu normaler Größe heran. Nach etwa 30 Tagen treten dann im Blattgrund Organanlagen auf, die Blattnerven verdicken sich, und auch hier treten Anlagehöcker auf. Bei genügender Luftfeuchtigkeit wachsen alle diese Anlagen zu normalen, beblätterten Sprossen aus (Abb. 9). Auch am Blattstiel können Adventivsprosse und -wurzeln entstehen; die Fähigkeit zur Organneubildung ist also nicht auf die Blattspreite beschränkt.

Noch an der Pflanze stehende Blätter, deren Siebteil durch die Eosinbehandlung zerstört ist, verhalten sich also genau so wie abgeschnittene Blätter mit mehrfach durchschnittenen Nerven. Daraus und aus der völlig unpolaren Neubildungsanlage an eosinbehandelten Blattstücken kann man mit Sicherheit schließen, daß die Ursache für die Auslösung der Neubildungsreaktion die Unterbrechung der apikal-basal gerichteten Siebteilleitung ist. Sie führt zu einem Stau der mit dem Assimilationsstrom geleiteten nativen organbildenden Substanzen am basalen Nervenende, worauf es dort zur Organneubildung kommt.

### *2. Beeinflussung der Leitung im Siebteil durch 2,3,5-Trijodbenzoesäure (TIBA)*[1]

NIEDERGANG-KAMIEN (1955) erzielte eine Änderung des polaren Auxintransports durch Behandlung von Pflanzen und herausgeschnittenen Pflanzenstücken mit verschiedenen Substanzen, unter denen eine der wirkungsvollsten TIBA war. LIBBERT (1958) beschreibt eine Blockierung der Leitung auch anderer Wirkstoffe nach Einwirkung von TIBA. KESSLER und MOSCICKI (1958) konnten zeigen, daß normalerweise vom Blatt nicht aufgenommene und nicht geleitete Stoffe nach Behandlung mit TIBA beschränkt aufgenommen und geleitet werden können.

Es war von Interesse festzustellen, welche Wirkung eine Behandlung mit TIBA, die ja offenbar die normale Stoffleitung im Siebteil stark beeinflußt, auf den Neubildungsvorgang der Begonienblattstücke hat.

TIBA wurde der Nährlösung in Konzentrationen von 0,1—500 mg/l zugegeben. Unter 1 mg/l zeigte sich außer einer leichten Abnahme der Größe der angelegten Organe keine Wirkung. 100 mg/l wirkten schon sehr stark schädigend: Teile der Spreite starben von der eingetauchten Kante her ab. Bei einer Konzentration von 500 mg/l wirkte TIBA sehr rasch völlig toxisch. Charakteristisch war jedoch die Wirkung auf die Organbildung bei 1 und 10 mg/l.

*TIBA 1 mg/l.* Von 25 Stücken war bei Versuchsende eines abgestorben, 1 Stück ohne Reaktion geblieben. Bei 13 Stücken erfolgte Neubildung wie üblich am eingetauchten Basalende, jedoch war die Organgröße gegenüber den Kontrollen zurückgegangen. Bei 8 Stücken wurden daneben auch Sprosse und Wurzeln oberhalb der Eintauchstelle angelegt, bei 2 Stücken sogar am apikalen Nervenende.

[1] Die TIBA wurde im Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen hergestellt.

*TIBA 10 mg/l.* Von 25 Stücken waren 2 abgestorben, eines ohne Reaktion geblieben. Nur noch 4 Stücke hatten wie üblich Organe — weiter verminderter Größe — am eingetauchten Basalende gebildet. Bei den übrigen 18 Stücken erfolgte dagegen Anlage von Sprossen und Wurzeln nur noch am freien Apikalende. In dieser Konzentration hat also TIBA die Polarität der Neubildungsanlage fast völlig umgekehrt (Abb. 10).

Dieses Ergebnis legt folgende Deutung nahe: Einerseits hemmt TIBA die Stoffleitung im Siebteil, die Konzentration der sonst dort geleiteten organbildenden Substanzen ist folglich nun auf der ganzen Nervenlänge gleich groß. Andererseits hemmt TIBA aber auch das Wachstum der Organanlagen, was aus den Befunden bei der Anwendung niedriger Konzentrationen zu entnehmen ist. Die Bedingungen für die Entstehung von Neubildungen sind also dort am günstigsten, wo die TIBA-Konzentration wegen der größtmöglichen Entfernung von dem TIBA-haltigen Nährboden am kleinsten ist, also am freien apikalen Nervenende.

Abb. 10. TIBA normal, 10 mg/l: Organbildung nur am apikalen Nervenende (Apikalende aus der Nervenverzweigung zu erkennen)

## IV. Experimentelle Induktion der Organbildung am apikalen Nervenende

Die beiden Kontrollversuche mit invers eingestellten Blattstücken zeigen, daß die Polarität in der Neubildungsanlage bei Stücken 10× 10 mm zuverlässig ausgeprägt ist. Ob die Stücke in Wasser oder auf Agar-Nährboden eingestellt werden, die Organe entstehen stets nur am basalen Ende des Nerven.

Die unter III beschriebenen Versuche legen die Ansicht nahe, daß die polare Leitung von Stoffen durch den Nerven vom apikalen zum basalen Ende des Blattstücks die Ursache dafür ist, daß auch die für die Organneubildung verantwortlichen Substanzen dabei am basalen Nervenende angehäuft werden und so den Anstoß zur Neubildungsreaktion geben. Es wurde nun versucht, an unbehandelten Blattstücken die Organbildung am apikalen Nervenende experimentell zu induzieren. Stoffe, von denen eine Auslösung oder Beeinflussung des Organbildungsvorgangs erwartet werden konnte, wurden dem Nährboden zugegeben. Die Blattstücke wurden invers eingesteckt kultiviert, so daß das apikale Nervenende unter den Einfluß dieser Stoffe kam. Durch einen positiven Ausfall solcher Versuche war dann auch ein Schluß auf die Natur der für den normalen Neubildungsvorgang verantwortlichen Stoffe möglich.

*1. Kultur auf glucosehaltigem Nährboden*

Es lag nahe, als erstes die bereits von GOEBEL (1903, 1908) geäußerte Vermutung nachzuprüfen, daß eine Anhäufung von „Baumaterialien" (Kohlenhydraten) der auslösende Reiz für die Neubildungsreaktion ist.

Untersucht wurde der von den Blattstücken ohne größere Schädigung vertragene Konzentrationsbereich von 0,25—4% Glucose. In keinem Fall konnte jedoch auf diese Weise Organbildung am apikalen Nervenende erzielt werden. Die Organbildung am freien Basalende erfolgte dabei fast unverändert.

Bei den Dunkelkulturen konnte gezeigt werden, daß alle Assimilationsprodukte in ihrer Wirkung durch Glucose ersetzt werden können (s. S. 269). Wenn also durch keine der von *Begonia rex* vertragenen Glucosekonzentrationen Induktion von Organbildung am apikalen Nervenende möglich war, so ist damit nachgewiesen, daß die Glucose zwar verantwortlich ist für das Wachstum der gebildeten Organe, aber nicht für die Auslösung der Neubildungsreaktion.

*2. Experimentelle Induktion von Organbildung durch Wuchsstoffe*

Schon CHOUARD (1938) und PREVOT (1939) beobachteten das Auftreten von Sprossen am apikalen Nervenende bei invers in Heteroauxinlösungen eingestellten Blattstücken bzw. bei Applikation einer Wuchsstoffpaste am Apikalende des Nerven. Genauere, vor allem quantitative Untersuchungen der Wuchsstoffwirkung wurden jedoch bisher nicht durchgeführt.

Für die chemische Induktion der Organbildung wurden die schon im I. Teil untersuchten Wuchsstoffe NES, IES und 2,4-D in den gleichen Konzentrationen wie dort verwendet. Für alle folgenden Versuchsreihen gilt, daß Organbildung am apikalen Nervenende nie bei allen Stücken einer Reihe, sondern stets nur bei einem Teil davon erfolgte. Die Stärke der Wuchsstoffwirkung zeigte sich also einerseits in dem Prozentsatz der Stücke mit Organbildung am Apikalende, andererseits in der Zahl der gebildeten Organe. Organbildung am basalen Nervenende fand ebenfalls statt; sie wird weiter unten beschrieben.

*α) α-Naphthyl-Essigsäure (NES).* Verwendet wurden die gleichen Konzentrationen wie bei I, 5a, nämlich 0,01—10 mg/l. Die Verträglichkeit der NES war die gleiche wie dort. Die Zahl der angelegten Organe pro Blattstück zeigt Abb. 11.

*Callusbildung.* Wie schon bei den normal in wuchsstoffhaltige Nährböden eingestellten Stücken wurde nur wenig Callus gebildet. Bei niedrigen Gaben bis 0,02 mg/l beschränkte er sich fast ausschließlich auf die leichte Verdickung des freien basalen Nervenendes. Bei höheren Konzentrationen bis 0,2 mg/l traten dann auch stärkere, knollige Verdickungen durch Callusbildungen an den eingetauchten apikalen Nervenenden auf (Abb. 12). Bei Gaben ab 0,5 mg/l wurde der Wuchsstoff durch

den Hauptnerven geleitet und rief auf dessen ganzer Länge starke Verdickung durch Callusbildung hervor. Meistens war der Callus noch von der Epidermis bedeckt, teilweise wurde diese jedoch durchbrochen, und es traten dann auf der ganzen Nervenlänge stellenweise kleine Häufchen von freiem Callus auf.

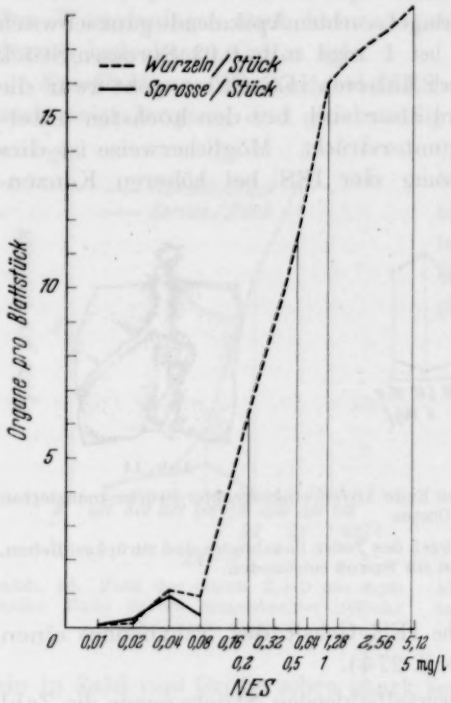



Abb. 11. Zahl der durch NES am apikalen Ende invers eingesteckter Stücke induzierten Organe

*Sproßbildung.* Bei Zugabe von 0,01 mg/l NES kam es überhaupt nur an einem einzigen Blattstück zu Organbildung am Apikalende des Nerven. Bei Erhöhung des NES-Zusatzes stieg die Zahl der angelegten Sprosse langsam an bis zu ihrem Maximum bei 0,04 mg/l; dort wurden fast so viele Sprosse gebildet wie

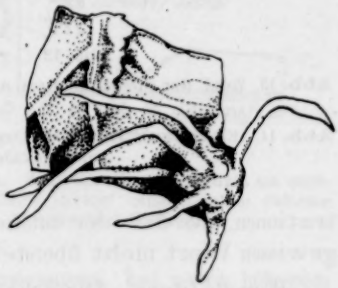


Abb. 12. NES invers, 0,2 mg/l: Organbildung am freien Basalende unterdrückt, am Apikalende zahlreiche Wurzeln

bei den Kontrollen am eingetauchten Basalende. Bei noch höheren NES-Gaben nahm die Zahl der Sprosse wieder ab, von 0,2 mg/l an wurden überhaupt keine Sprosse mehr angelegt.

*Wurzelbildung.* Im Bereich niedriger NES-Konzentrationen bis 0,08 mg/l besteht ungefähre Übereinstimmung zwischen Sproß- und Wurzelzahl. Gaben über 0,08 mg/l NES, die Sproßbildung unterdrückten, führten zu einer raschen und erheblichen Erhöhung der Zahl der gebildeten Wurzeln. Die meisten Wurzeln wurden bei 5 mg/l angelegt, das beste Wachstum erfolgte allerdings bei 0,5 mg/l NES. Die höheren NES-Gaben wirken hemmend auf das Wurzelwachstum, bei 10 mg/l schädigt die NES die Stücke so stark, daß bis Versuchsende fast alle Stücke abgestorben waren und der Versuch nicht ausgewertet werden konnte.

*β) β-Indolyl-Essigsäure (IES).* Es wurden IES-Gaben von 0,01—10 mg/l untersucht. In allen Konzentrationen wurde der Wuchsstoff gut vertragen. Die Zahl der am eingetauchten Apikalende jeweils entstandenen Organe zeigt Abb. 13.

*Callusbildung.* Sie ist noch schwächer als bei den NES-Kulturen, erfolgt aber grundsätzlich in gleicher Weise.

*Sproßbildung.* Sie beginnt am eingetauchten Apikalende ganz schwach bei 0,04 mg/l IES und erreicht bei 1 mg/l mit 0,63 Sprossen/Stück ihr Maximum (Abb. 14). Bei noch höheren IES-Gaben geht zwar die Sproßbildung wieder zurück, wird aber auch bei den höchsten untersuchten Gaben nicht vollständig unterdrückt. Möglicherweise ist dies zurückzuführen auf eine Zersetzung der IES bei höheren Konzen-

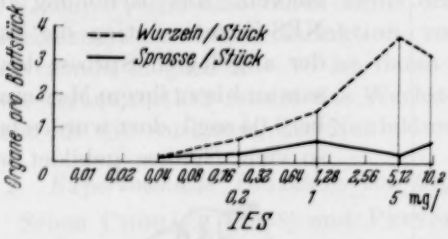



Abb. 13

Abb. 14

Abb. 13. Zahl der durch IES am apikalen Ende invers eingesteckter Stücke induzierten Organe

Abb. 14. IES invers 1 mg/l: Die Organanlagen des freien Basalendes sind zurückgeblieben, am Apikalende ist ein Sproß entstanden

trationen, so daß der tatsächliche IES-Gehalt des Nährbodens einen gewissen Wert nicht übersteigt (s. S. 274).

*Wurzelbildung.* Die Zahl der wurzelbildenden Stücke sowie die Zahl der gebildeten Wurzeln steigen gleichmäßig bis zur Optimalkonzentration von 5 mg/l IES an, um dann ganz leicht abzunehmen. Die Wurzelgröße wird von allen IES-Gaben nicht wesentlich beeinflußt.

In ihrem Aussehen stimmten die mit NES und IES am apikalen Nervenende induzierten Organe völlig mit den bei den normal eingesteckten Kontrollen gebildeten überein. Werden die Blattstücke auf Erde ausgepflanzt, so wachsen die Sprosse im Gewächshaus zu völlig normalen Pflanzen heran.

*γ) 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D).* Wie schon am Basalende normal eingesteckter Blattstücke zeigte 2,4-D auch hier am apikalen Nervenende starke Wuchsstoffwirkung. Die Abweichungen gegenüber der Wirkung von NES und IES waren beträchtlich. Untersucht wurden Konzentrationen von 0,01—1 mg/l 2,4-D. Schon bei 1 mg/l wurden die Blattstücke stark geschädigt, 5 mg/l wirkten vollständig toxisch. Die Zahl der jeweils entstandenen Organe zeigt Abb. 15.

*Callusbildung.* Es wird mehr Callus als bei NES- und IES-Zugabe gebildet. Schon bei niedrigen Konzentrationen schwillt der ganze eingetauchte Spreitenbezirk leicht an, die Epidermis wird jedoch nicht durchbrochen. Bei höheren Gaben ab 0,2 mg/l nimmt die Anschwellung zu, teilweise platzt auch die Epidermis auf. Es treten deshalb zwischen den Wurzelanlagen auch kleine Häufchen von freiem (nicht von Epidermis bedecktem) Callus auf.

*Sproßbildung.* Wie auch bei NES und IES beginnt sie bei 0,01 mg/l und steigt langsam und gleichmäßig an bis zu einem Maximum bei 0,08 mg/l 2,4-D. Bei dieser Konzentration wird fast die gleiche Sproßzahl wie bei den normal eingesteckten Kontrollen erreicht. Auch die Größe der Sprosse ist etwa die gleiche wie dort. Bei 0,2 mg/l sind sie in Zahl und Größe schon stark zurückgegangen, bei noch höheren Konzentrationen fehlt jede Sproßanlage.

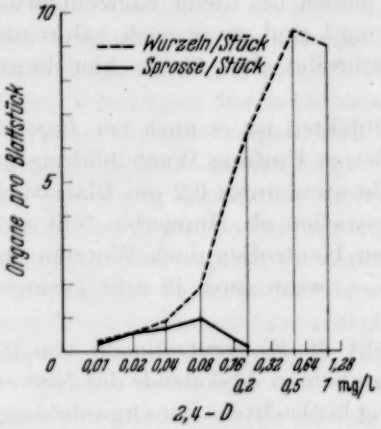



Abb. 15. Zahl der durch 2,4-D am apikalen Ende invers eingesteckter Stücke entstandenen Organe

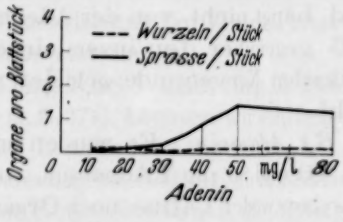



Abb. 16. Zahl der durch Adenin am apikalen Ende invers eingesteckter Stücke induzierten Organe

*Wurzelbildung.* Bis 0,08 mg/l 2,4-D steigt die Zahl der Wurzeln langsam an; bei dieser Konzentration werden gleich viele und gleich große Wurzeln wie bei den Normalkontrollen erreicht. Bei höheren Gaben nimmt die Zahl der Wurzeln rasch zu, wobei sie jedoch immer kleiner werden. Schon bei 0,5 mg/l haben sie sämtlich die auf S. 275 beschriebene Höckerform.

### *3. Induktion von Organbildung durch Purine*

Nachdem sich an den normal eingetauchten Stücken der starke Einfluß des Adenins auf den Neubildungsvorgang gezeigt hatte, war es naheliegend, auch seine Wirkung auf das apikale Nervenende zu untersuchen. Daneben wurden noch Guanin und Adenosin verwendet.

*α) Adenin.* Es wurden Adeninkonzentrationen von 10—80 mg/l untersucht. Die Verträglichkeit war die gleiche wie bei den normal eingesteckten Stücken (s. S. 276). Die erzielte Organbildung zeigt Abb. 16.

*Callusbildung.* Es treten am eingetauchten Nervenende die gleichen kompakten grünen knollenartigen Callusverdickungen auf, wie sie schon für die normal eingesteckten Stücke beschrieben wurden. Eine stärkere Verdickung über den ganzen eingetauchten Spreitenbezirk wurde nicht beobachtet. Eine Wirkung des Adenins auf das freie basale Nervenende wurde nicht erzielt.

*Sproßbildung.* Bei niederen Adeningaben bis 30 mg/l sind die Zahl der sproßbildenden Blattstücke und die Sproßzahl noch sehr gering. Danach nimmt die Sproßzahl rasch zu, um bei 50 mg/l ihr Maximum zu erreichen. Die Größe der Sprosse ist jedoch bei dieser Konzentration schon stark zurückgegangen. Bei 80 mg/l sind zwar noch zahlreiche Sproßanlagen entstanden, doch überschreitet ihre Größe hier kaum mehr 1 mm.

*Wurzelbildung.* Wie bei anderen Objekten ist es auch bei *Begonia rex* nicht möglich, mit Adenin in größerem Umfang Wurzelbildung zu induzieren. Die Zahl der Wurzeln bleibt stets unter 0,2 pro Blattstück und hängt nicht von der Adeninkonzentration ab. Immerhin fällt auf, daß gegenüber den invers eingesteckten Kontrollen doch Wurzeln am apikalen Nervenende gebildet werden — wenn auch in sehr geringer Zahl.

*β) Adenosin.* Es wurden untersucht die Konzentrationen von 10, 20, 40 und 80 mg/l Adenosin. Am eingetauchten Apikalende des Nerven wurden weder Callus- noch Organbildung beobachtet. Die Organbildung am basalen Nervenende erfolgte wie üblich.

*γ) Guanin.* Es wurde das schwerlösliche Guanin verwendet, das in der Nährlösung suspendiert wurde (s. S. 277). Organbildung am eingetauchten Apikalende des Nerven konnte durch Guanin nicht induziert werden. Das basale Nervenende zeigte wie üblich Neubildungen.

### 4. *Beeinflussung der Organbildung am basalen Nervenende bei invers eingesteckten Blattstücken*

Bei den Versuchen mit normal eingesteckten Stücken auf wuchsstoff- und adeninhaltigen Nährböden hatte sich — abgesehen von dem abweichenden Verhalten der 2,4-D (s. S. 274) — in keinem Fall eine Wirkung dieser Substanzen auf nicht eingetauchte Spreitenbezirke gezeigt. Sie sind also nicht in der Lage, in Richtung basal—apikal in den Nerven bzw. in das Blatt einzuwandern.

Es war nun von Interesse, die Wanderung dieser Stoffe in invers eingestellten Blattstücken zu verfolgen. Dies ist leicht möglich, da ihre Wirkung auf die Anlagen des freien Basalendes gut festgestellt werden kann. Auch am Nerven zeigt sich die Wirkung höherer Wuchsstoffgaben als Callus- und Wurzelbildung. Als Beispiel sollen die Ergebnisse bei NES angeführt werden, IES verhielt sich grundsätzlich gleich.

Bei den Kontrollen entstehen Neubildungen nur am freien Basalende des Nerven (Abb. 8). Sproß- und Wurzelanlagen werden nebeneinander in größerer Zahl als bei den Normalkontrollen gebildet, sie wachsen aber sehr langsam. Von steigenden NES-Gaben werden die Organanlagen des freien Basalendes fortlaufend stärker gehemmt. Schon bei 0,2 mg/l (Abb. 12) sind sie ganz winzig und nur unter dem Binokular deutlich zu erkennen. Bei noch höheren NES-Gaben fehlt die Organbildung am freien Basalende des Nerven völlig.

Der Callus beschränkt sich bis 0,08 mg/l auf zunehmende Verdickung des freien Basalendes, bei höheren Gaben breitet er sich über den Nerven zum eingetauchten Apikalende hin aus (Abb. 12). Bei noch höheren NES-Konzentrationen ruft der Wuchsstoff auf der ganzen Nervenlänge starke Verdickung durch Callusbildung hervor.

Diese Versuche zeigen, daß Leitung der NES im Blattnerven in Richtung apikal—basal erfolgt. Aus der schlechten Wasserversorgung der am freien Basalende invers eingesteckter Stücke entstandenen Anlagen kann geschlossen werden, daß Wasserleitung im Holzteil nur in Richtung basal—apikal in stärkerem Maße stattfindet.

Aus dieser Tatsache und daraus, daß eine NES-Wanderung in Richtung basal—apikal nie beobachtet wurde (s. S. 274), können wir schließen, daß die Wuchsstoffleitung im Siebteil der Leitbündel stattfindet.

Weniger deutlich ist diese polare Wanderung bei Adenin zu erkennen. Auch hier werden jedoch bei den höheren Konzentrationen die Anlagen des freien Basalendes, vor allem die Wurzelanlagen gehemmt.

## Besprechung der Ergebnisse

Über die Ursachen für die Auslösung der Organneubildung an isolierten Blattstücken von *Begonia rex* finden sich in der Literatur im wesentlichen drei Ansichten vertreten. Sachs (1880) glaubt, daß die Organbildung durch gewisse, damals noch hypothetische, „organbildende" Substanzen ausgelöst wird. Goebel (1908) hält für die entscheidende Ursache der Neubildungen, daß die im intakten Blatt dauernd in den Sproß abgeleiteten Kohlenhydrate nach Abtrennung des Blattes und Zerschneiden der Nerven am basalen Nervenende sich anreichern. Prevot (1939) schließlich glaubt, daß die Neubildung von Organen durch Hemmstoffe, die aus der Pflanze ins Blatt geleitet werden, blockiert wird. Trennt man das Blatt ab, so hört die Hemmstoffzufuhr auf, und es kommt zur Organbildung.

Was zunächst die Vermutung von Goebel betrifft, so konnte eindeutig gezeigt werden, daß die Kohlenhydrate zwar als Baustoffe für die Neubildungsvorgänge von Bedeutung sind, nicht aber für deren Induktion. Wurden nämlich Blattstücke mit dem apikalen Ende in zuckerhaltige Nährlösungen wechselnder Konzentration eingesteckt,

soweit diese überhaupt von der Pflanze noch vertragen werden konnten, dann zeigte sich in keinem Falle Organbildung. Der Einwand, es könnte wegen der ständigen basal gerichteten Ableitung zu keiner Anreicherung von Zuckern am apikalen Nervenende kommen, wird durch die anschließend zu besprechenden Versuche mit Wuchsstoffen widerlegt, bei denen eine Organinduktion gelungen ist.

Um die Bedeutung der Wuchsstoffe und Purine, die von zahlreichen anderen Objekten her als organbildende Substanzen bekannt sind, auch für die Neubildungsvorgänge bei *Begonia rex* zu erfassen, wurde als erstes der Einfluß dieser Stoffe auf den normalen Neubildungsvorgang am basalen Nervenende untersucht. Die Wuchsstoffe und Purine wurden dabei in abgestuften Konzentrationen den Nährböden zugegeben, auf denen die Blattstücke kultiviert wurden.

Die verwendeten Wuchsstoffe (NES, IES, 2,4-D) haben, abgesehen von quantitativen Unterschieden, auf die Neubildungsvorgänge im einzelnen folgenden Einfluß: Die Callusbildung wird in steigendem Maße verstärkt und erstreckt sich vom Nervenende aus fortschreitend über den ganzen eingetauchten Bereich des Blattstücks. Die Zahl der entstehenden Wurzeln nimmt mit steigender Wuchsstoffkonzentration beträchtlich zu, die Sproßbildung dagegen wird im gleichen Maße immer mehr unterdrückt, bis von einer bestimmten Konzentration an überhaupt keine Sprosse mehr gebildet werden.

Ganz anders verhält sich Adenin. Es hemmt die Wurzelbildung und erhöht die Zahl der an den Blattstücken gebildeten Sprosse. Auffallend ist auch der Einfluß auf die Callusbildung. Der bei Adeningaben entstehende Callus weicht, vor allem auch durch seine Ergrünung, erheblich von dem durch Wuchsstoffe hervorgerufenen Callus ab.

Diese Versuche zeigen, daß Wuchsstoffe und Adenin die normale Organbildung am basalen Nervenende von Blattstücken außerordentlich stark modifizieren können. Wegen der strengen Polarität in der Anlage der Neubildungen läßt sich nun zeigen, daß diese Stoffe nicht nur bereits induzierte Organanlagen modifizieren, sondern auch eine Anlage von Organen selbst auslösen können. Im Gegensatz zum basalen Ende entstehen nämlich am apikalen Nervenende auch bei inverser Einstellung niemals Neubildungen. Eine Organbildung läßt sich aber auch am apikalen Ende in jeder gewünschten Richtung induzieren durch Zugabe von Wuchsstoffen und Adenin: Zugabe von Wuchsstoffen zur Nährlösung führt in niederen Konzentrationen zur Anlage von Sprossen und Wurzeln; bei höheren Konzentrationen ist die Sproßbildung unterdrückt, und es entstehen nur zahlreiche Wurzeln. Umgekehrt gelingt durch Adenin eine Wurzelinduktion nur in unbedeutendem Umfang, während beträchtlich Sprosse gebildet werden.

Damit ist aber eindeutig gezeigt, daß durch Wuchsstoffe und Adenin bei Blattstücken von *Begonia rex* auch dort in willkürlich bestimmbarer Weise Organbildung induziert werden kann, wo ohne diese Stoffe niemals Organbildung erfolgt. Der Schluß ist naheliegend, daß auch die natürliche Organbildung am basalen Nervenende, die ja durch Wuchsstoff und Adenin in jeder Richtung modifizierbar ist, durch Stoffe induziert wird, die diesen Verbindungen zum mindesten nahestehen. Die Untersuchung dieser Frage lag nicht im Rahmen der vorliegenden Arbeit; sie ist einer gesonderten Untersuchung vorbehalten.

Mit diesem Ergebnis ist dann aber gleichzeitig auch das zweite Problem einer Lösung nahegebracht, das bei der Neubildung an Blattstücken von *Begonia rex* vorliegt, nämlich die Polarität in der Anlegung der Organe. Sie ist ohne weiteres verständlich durch die jetzt naheliegende Annahme, daß die organinduzierenden Stoffe (vom Charakter der Wuchsstoffe oder des Adenins) im Blatt gebildet und von da durch die Siebteile basipetal abgeleitet werden. Bei mechanischer Unterbrechung dieser Leitung kommt es nach ihrer Anreicherung am basalen Nervenende zur Organbildung. Diese Vermutung ist leicht experimentell zu überprüfen durch eine Beeinflussung der Stoffleitung im Siebteil. Wird nämlich durch Eosinbehandlung die Siebröhrenleitung unterbrochen, so entstehen jetzt die Neubildungen an den Blattstücken nicht mehr nur am basalen Ende des Nerven, sondern über die ganze Länge des Nerven verteilt, vermutlich wohl an den Stellen, wo aus nichtblockierten Seitennerven die organbildenden Stoffe angereichert werden. Das gleiche gilt auch für eosinbehandelte intakte Blätter, die die Behandlung, ohne abzufallen, überleben; jetzt entstehen auf der ganzen Länge der größeren Nerven des noch an der Pflanze befindlichen Blattes die Neubildungen. Die gleiche Wirkung wie durch Eosinbehandlung läßt sich bei isolierten Blattstücken auch durch Behandlung mit leitungshemmenden Stoffen wie TIBA erzielen.

Alle in der vorliegenden Arbeit besprochenen Versuche legen also folgende einfache Erklärung der Neubildungsvorgänge an Blattstücken von *Begonia rex* nahe: Im Blatt gebildete organinduzierende Stoffe vom Charakter der Wuchsstoffe, vielleicht in Verbindung mit Purinen, die im intakten, an der Pflanze befindlichen Blatt streng basipetal in den Sproß abgeleitet werden, reichern sich bei Unterbrechung der Stoffleitung an der Unterbrechungsstelle an, bis sie den zur Organinduktion notwendigen Schwellenwert überschreiten.

Für die Existenz eines aus dem Sproß akropetal wandernden Hemmstoffs (Prevot) liegen keinerlei experimentellen Hinweise vor. Nach den bisher vorliegenden Befunden ist die Annahme eines solchen Hemmstoffs völlig überflüssig.

## Zusammenfassung

1. Nach Desinfektion mit 0,01% Sublimat für die Dauer von 60 min gelingt es leicht, 1 cm² große Blattstücke von *Begonia rex* auf festen Nährböden steril in vitro zu kultivieren und den Neubildungsvorgang unter genau definierten Bedingungen zu untersuchen.

2. Die bei normal eingesteckten Blattstücken ausschließlich am basalen Nervenende erfolgende Neubildungsreaktion läßt sich durch Wuchsstoffzugabe weitgehend abwandeln. Niedrige Wuchsstoffgaben erhöhen die Wurzelzahl und setzen die Sproßzahl herab, bei höheren Gaben wird die Sproßbildung völlig unterdrückt, die Wurzelzahl sehr stark erhöht.

3. Adenin erhöht die Zahl der angelegten Sprosse und setzt die Wurzelzahl herab. Bei den höchsten vertragenen Konzentrationen ist die Wurzelbildung völlig unterdrückt.

4. Durch gut vertragene Gaben von Auxinantagonisten wie PCIB und 2,4-DNP konnte die Neubildungsreaktion nicht unterdrückt werden. In höheren Konzentrationen wirken diese Stoffe stark toxisch.

5. Bei inverser Einstellung der Blattstücke konnte experimentell auch am apikalen Nervenende eine Organbildung durch Wuchsstoffe und Adenin ausgelöst werden. Wuchsstoffe induzierten in niedrigen Gaben Sproß- und Wurzelbildung, in höheren nur Wurzelbildung. Durch Adenin war in größerem Umfang nur Induktion von Sproßbildung möglich.

6. Durch Glucose konnte mit keiner vertragenen Konzentration Organbildung ausgelöst werden.

7. Zerstört man durch Eosinbehandlung den Siebteil von Blättern, die sich noch an der Pflanze befinden, so wird die Neubildung entlang den Hauptnerven des Blattes in der gleichen Weise ausgelöst, wie wenn das Blatt abgetrennt und seine Nerven zerschnitten worden wären.

8. An Blattstücken mit eosinzerstörtem Siebteil werden die Neubildungen nicht mehr polar nur am basalen Nervenende angelegt. Sie entstehen auf der ganzen Länge des Nerven.

9. TIBA hemmt die Stoffleitung im Siebteil. Wird sie dem Nährboden zugegeben, auf dem die Blattstücke normal eingesteckt kultiviert werden, so entstehen die Neubildungen ebenfalls nicht mehr ausschließlich am basalen Nervenende, sondern teilweise sogar am apikalen.

10. Zur Erklärung der Organinduktion und deren polarer Anlegung wird angenommen, daß im Blatt gebildete, streng basipetal geleitete organinduzierende Stoffe, wie Wuchsstoff und Adenin, bei Unterbrechung der Siebteilleitung an der Unterbrechungsstelle angereichert werden und deshalb dort zur Organbildung führen.

Herrn Privatdozent Dr. E. HAUSTEIN danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit sowie für seine stete und hilfsbereite Aufmerksamkeit, mit der er den Gang der Untersuchung verfolgte. Herrn Prof. Dr. J. SCHWEMMLE danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes im Botanischen Institut Erlangen. Für die

Anfertigung der Zeichnungen danke ich Herrn cand. rer. nat. H. Brielmayer Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

## Literatur

Behre, K.: Physiologische und cytologische Untersuchungen über *Drosera*. Planta (Berl.) **7**, 208—306 (1929). — Brauner, L.: Über den Mechanismus der Photolyse des Heteroauxins. Naturwiss. **40**, 23 (1953). — Chouard, P.: Production expérimentale de bourgeons sous l'effet des hétéroauxines. C. R. Acad. Sci. (Paris) **206**, 1401—1404 (1938). — Gautheret, R. J.: Manual technique de culture des tissus végétaux. Paris: Masson & Cie. 1942. — Goebel, K.: Weitere Studien über Regeneration. Flora (Jena) **92**, 132—146 (1903). — Einleitung in die experimentelle Morphologie der Pflanzen. Leipzig: Teubner 1908. — Haberlandt, G.: Zur Physiologie der Zellteilung. S.-B. Akad. Wiss. Berlin, 1. Halbbd., 318—345 (1913). — Hartsema, A.: Anatomische und experimentelle Untersuchungen über das Auftreten von Neubildungen an Blättern von *Begonia rex*. Rec. Trav. bot. néerl. **23**, 305—361 (1926). — Heller, R.: Récherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés in vitro. Ann. Sci. natur., Bot. Sér. XI **14**, 1—223 (1953). — Jablonski, J. R., and F. Skoog: Cell enlargement and cell division in excised tobacco pith tissue. Physiol. Plantarum (Cph.) **7**, 16—24 (1954). — Kessler, B., and Z. M. Moscicki: Effect of triiodobenzoic acid and maleic hydrazide upon the transport of foliar applied calcium and iron. Plant Physiol. **33**, 70—72 (1958). — Lamprecht, W.: Über die Kultur und die Transplantation kleinerer Blattstückchen. Beitr. allg. Bot. **1**, 353—398 (1918). — Lenski, I.: Über die Brutzwiebelbildung auf den Blättern von *Drimiopsis kirkii*. Planta (Berl.) **50**, 579—621 (1958). — Libbert, E.: Regulation des Wurzelwachstums durch synthetische und endogene Inhibitoren. Planta (Berl.) **50**, 25—40 (1957). — Einfluß der Trijodbenzoesäure (TIBA) auf die Wirkstoffleitung im Pflanzenstengel. Naturwiss. **45**, 20 (1958). — Mayer, L.: Wachstum und Organbildung an in vitro kultivierten Segmenten von *Pelargonium zonale* und *Cyclamen persicum*. Planta (Berl.) **47**, 401—446 (1956). — Niedergang-Kamien, E.: Chemical alterations of auxin transport. Plant Physiol. **30**, Suppl. V (1955). — Pohl, R., u. G. Ochs: Über die Wuchsstoffwirkung beim Streckungswachstum der Wurzel. Naturwiss. **40**, 24—25 (1953). — Prevot, P. C.: La néoformation des bourgeons chez les végétaux. Mém. Soc. roy. Sci. Liège, Sér. IV **3**, 173—342 (1939). — Regel, F.: Die Vermehrung der Begoniaceen aus ihren Blättern. Jena. Z. Naturw. **10**, 447—492 (1876). — Sachs, J.: Lehrbuch der Botanik, 4. Aufl. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1874. — Stoff und Form der Pflanzenorgane. Arb. bot. Inst. Würzburg **2**, 452—488 (1880). — Schumacher, W.: Untersuchungen über die Lokalisation der Stoffwanderung in den Leitbündeln höherer Pflanzen. Jb. wiss. Bot. **73**, 770—823 (1930). — Simon, S. V.: Über die Beziehungen zwischen Stoffstauung und Neubildungsvorgängen in isolierten Blättern. Z. Bot. **12**, 593—634 (1920). — Skoog, F., and Ch. Tsui: Chemical control of growth and bud formation in tobacco stem segments and callus cultured in vitro. Amer. J. Bot. **35**, 782—787 (1948). — Growth substances and the formation of buds in plant tissues. In: Plant growth substances. Wisconsin: University Wisconsin Press 1951. — Stichel, E.: Gleichzeitige Induktion von Sprossen und Wurzeln an in vitro kultivierten Gewebestücken von *Cyclamen persicum*. Planta (Berl.) **53**, 293—317 (1959). — Turel, F., and M. M. Howes: Safflower leaf tissue culture. Canad. J. Bot. **34**, 825—829 (1956). — White, P. R.: A handbook of plant tissue culture. New York: J. Catell Press 1943.

Dr. Klaus Wirth,
Erlangen, Botanisches Institut der Universität, Schloßgarten 4

Planta 54, 294—313 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen

# KEIMVERSUCHE AUF GENETISCHER GRUNDLAGE

## I. DIE LICHTABHÄNGIGKEIT

Von

J. SCHWEMMLE

Mit 24 Textabbildungen

*(Eingegangen am 21. Oktober 1959)*

Seit 1925 wurde mit mehreren Arten von Oenotheren aus der Sektion *Raimannia* experimentiert. Sie haben sich in verschiedenen Richtungen als äußerst günstige Objekte erwiesen. Jahr für Jahr wurden die Samen für die Aufzuchten zum Keimen ausgelegt. Dabei war leicht festzustellen, daß die Keimgeschwindigkeit recht unterschiedlich ist. Die Samen der *Oenothera odorata* beispielsweise keimten verhältnismäßig schnell, diejenigen der *Oenothera Berteriana* merklich langsamer. Besonders auffallend war die Keimung der Samen der *Oenothera argentinea*. Sie lagen wochenlang im Keimbett, ohne zu schimmeln, um dann plötzlich fast hundertprozentig zu keimen. Schon lange bestand die Absicht, vergleichende Keimversuche durchzuführen. Aber erst im Jahre 1953 konnte mit den das ganze Jahr sich hinziehenden Vorversuchen begonnen werden. Da sie mit unzulänglichen Mitteln durchgeführt werden mußten, seien sie gar nicht weiter erwähnt. Nur ergab sich mit völliger Sicherheit, daß die Samen der *Oenothera Berteriana* im Dunkeln nicht oder nur zu einem geringen Prozentsatz keimten. Sie gehören also in die Gruppe der obligaten Lichtkeimer. Demgegenüber keimten die Samen der *Oenothera odorata* schon im Dunkeln, noch besser aber, wenn sie belichtet wurden. Ihre Keimung wird also durch das Licht gefördert.

Nun sind gerade diese beiden Arten genetisch besonders eingehend untersucht worden, und so stand für die vom 15.12.54 bis zum 3.11.55 durchgeführten Untersuchungen, über die nachfolgend berichtet wird, ein reiches Material zur Verfügung.

Auch diese Untersuchungen wurden von seiten der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt. Dafür sei auch an dieser Stelle gedankt, ebenso Frl. LAUX und Frl. Dr. SCHNEIDER für ihre Mithilfe.

### I. Material und Methode

Die Formen, von denen die Samen für die Keimversuche stammten, sollen hier noch nicht der Reihe nach aufgeführt werden. Da ihre genetische Konstitution bei der Besprechung der Versuche doch noch einmal anzugeben ist, würde das nur eine Wiederholung bedeuten, wenn wir sie hier schon behandelten.

Von den verschiedenen Formen wurden von Ende August bis Anfang Oktober an jeweils gleichen Tagen Kapseln abgenommen. Die Samen stammten also aus

Freibestäubungen. Da es sich gezeigt hat, daß dabei die Anteile der aus Fremdbestäubung stammenden Formen in den Aufzuchten nur klein sind, werden dadurch die Untersuchungen nicht nennenswert beeinträchtigt. Natürlich wäre es besser gewesen, die Pflanzen zu selbsten. Aber da die Keimversuche neben anderen befruchtungsphysiologischen Untersuchungen herliefen, fehlte die Zeit zu den zeitraubenden Selbstungen. Bedenklicher ist, daß die Samen der Freibestäubungen von verschiedenen Tagen stammten. Spätere Untersuchungen haben nämlich ergeben, daß der Abnahmetag eine große Rolle bei der Keimung spielt. Das war aber zu Beginn der Untersuchungen nicht vorauszusehen gewesen. Die Samen wurden durch Verwendung einer Samenreinigungsmaschine von den tauben und geschrumpften Samen sowie dem groben und feinen Pulver befreit und dann sorgfältig durchgemischt. Dadurch wird der Nachteil der zu verschiedenen Zeiten erfolgten Abnahme einigermaßen ausgeglichen. Jedenfalls sind die gewonnenen Befunde recht eindeutig.

Für die Versuche wurden jeweils etwa 300 Samen in eine Doppelschale aus Glas mit 5 cm lichter Weite und 2 cm Höhe mit 3 Lagen Filtrierpapier (Schleicher und Schüll Nr. 595) ausgelegt. Jede Schale bekam eine Protokollnummer.

Bei den Dunkelversuchen wurden die Samen am 1. Versuchstag um 8 Uhr angefeuchtet und dann in einem Thermostaten bei einer konstanten Temperatur von 24,5° C gehalten.

Bei den sog[1]. Optimalversuchen kamen die Keimschalen in einen Thermostaten — ebenfalls bei 24,5° C —, der von oben belichtet werden konnte, und zwar durch eine in der Höhe verstellbare Spiegelleuchte mit einer Osram HNW 40 Watt-Leuchtröhre. Diese wurde so eingestellt, daß die Samen im Keimbett mit 300 Lux belichtet wurden. Gemessen wurde die Lichtintensität mit einem Luxmeter der Firma Gossen.

Die Temperatur des Thermostaten schwankte nur geringfügig (um $\pm 1/10^0$). Sie wurde wie die Belichtungsstärke laufend überprüft. Es ist nicht unmöglich, daß letztere wegen der Schwankungen im Stromnetz stärker schwankte, da nur einmal täglich gemessen wurde. Ein Stabilisator stand seinerzeit noch nicht zur Verfügung. Die am 1. Versuchstag um 8 Uhr angefeuchteten Samen wurden von 8—18 Uhr belichtet. Am 2. Tag wurde ab 8 Uhr bis zum Ende des 10. Versuchstages Dauerlicht gegeben.

Bei einer 3. Versuchsserie mit Samen der *Oenothera Berteriana* und der *Oenothera odorata* wurde nur am 1. und 2. Versuchstag je von 8—18 Uhr belichtet.

Die Keimlinge in den einzelnen Schalen wurden jeden Vormittag im Streulicht von 20 Lux ausgezählt. Da die Raumtemperatur nur um etwa 4,5° C tiefer war als die des Thermostaten, ist nicht anzunehmen, daß sich dieser Temperaturunterschied auf die Versuche ungünstig auswirkte. Es ist auch kein Anhaltspunkt dafür vorhanden.

Nach 10 Tagen war die Keimung im allgemeinen abgeschlossen. Danach wurden die Keimprozente, bezogen auf die Zahl der ausgelegten vollen Samen, berechnet.

Wenn die Samen bei den verschiedenen Parallelversuchen unter optimalen Bedingungen durchweg zu 100% gekeimt hätten, hätten die Keimkurven der Dunkelversuche unmittelbar miteinander verglichen werden können. Aber es keimen beispielsweise die Samen der *Oenothera odorata* (s. Abb. 1) im allgemeinen schlechter als diejenigen der *Oenothera Berteriana* und vielleicht auch zu verschiedenen Zeiten verschieden gut. Um vergleichbare Werte zu bekommen, wurde folgendermaßen verfahren:

[1] Die Einschränkung „sog." wurde gemacht, weil nicht untersucht worden war, ob nicht bei stärkerer Belichtung die Samen noch besser gekeimt hätten.

Beispielsweise keimten bei den am 1. 3. 55 angesetzten Versuchen die Samen der *Oenothera Berteriana* bei $2\times10$ Std. Belichtung zu 24,4% (Abb. 2), unter den sog. optimalen Bedingungen aber zu 91,3% (Abb. 2). Es wurde nun der erste Wert zu dem zweiten in Beziehung gesetzt $\frac{\%\,(2\times10\text{ Std.})\times100}{\%\,(\text{optimal})}$. Setzen wir die Zahlen ein, so bekommen wir $\frac{24{,}4\times100}{91{,}3}=26{,}7\%$. Dieser Wert ist ein Maß für die Lichtabhängigkeit der Keimung der *Oenothera Berteriana*-Samen. Er kann verglichen werden mit demjenigen, der sich aus den Versuchswerten vom 1. 2. 55 errechnet, nämlich $\frac{4{,}0\times100}{79{,}8}=5{,}0\%$.

Bei den Versuchen mit Samen der *Oenothera odorata* bekommen wir viel höhere Werte. Für die gleichen Versuchstage errechnen sich $\frac{78{,}3\times100}{81{,}2}=96{,}4\%$ bzw. $\frac{68{,}6\times100}{85{,}8}=80{,}0\%$. Demzufolge werden die Samen der *Oenothera odorata* in der Keimung durch Licht etwas gefördert, wohingegen die Samen der *Oenothera Berteriana* für die Keimung Licht benötigen.

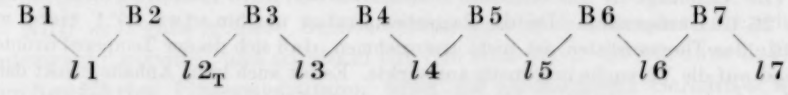
Ganz allgemein können wir sagen: je höher die errechneten Prozentsätze, desto geringer die Lichtabhängigkeit der Keimung; je niedriger sie sind, desto größer die Lichtabhängigkeit. Die Kurven mit den errechneten Werten zeigen uns die Lichtabhängigkeit der Samenkeimung und sind vergleichbar (Abb. 3).

Zunächst wird die Keimung der Samen der *Oenothera Berteriana* und der *Oenothera odorata* besprochen, also der beiden Ausgangsarten, hernach diejenige der verschiedenen in den Kreuzungsfolgen erhaltenen Formen.

## II. Die Versuche

### *1. Die Keimung der Samen der Oenothera Berteriana und der Oenothera odorata*

*a) Oenothera Berteriana.* Die *Oenothera Berteriana* — seit 1925 immer wieder geselbstet — ist eine isogame Komplexheterozygote mit den Komplexen B und $l_T$. Sie hat 7 B(B1 — B7)- und 7 $l$ ($l1$ — $l7$)-Chromosomen. In der Metaphase der Meiosis sind diese folgendermaßen angeordnet:




Im allgemeinen ist bei den Optimalversuchen die Keimung recht gut (Abb. 1). Mit 79,8% ist sie am schlechtesten bei den am 1. 2. angesetzten Versuchen. Ob die sonstigen im Kurvenverlauf erkennbaren Schwankungen von Bedeutung sind, kann nicht gesagt werden.

Bei den Dunkelversuchen (Abb. 1) dagegen keimen die Samen überhaupt nicht oder nur zu einem kleinen Prozentsatz (15. 3.: 2,5%; 16. 6: 0,7%). Dementsprechend verläuft die Kurve für die Lichtabhängigkeit der Keimung (Abb. 3).

Bei den $2\times10$ Std.-Versuchen ist die Keimung mit 34,3% zunächst verhältnismäßig gut (Abb. 2). Sie sinkt dann bis zu den am 1. 2. 55

angesetzten Versuchen mit nur noch 4,0% gleichmäßig ab. Auch bei den Optimalversuchen war sie zu diesem Zeitpunkt am schlechtesten gewesen. Darauf folgt ein Anstieg auf 24,4% bei dem am 1. 3. angesetzten Versuch. Dann sinkt die Keimung erneut ab (7,1% am 18. 4.), um gleich darauf wieder den hohen Wert von 21,5% zu erreichen. Hernach fällt die Kurve bis zu dem Versuch vom 15. 7. mit nur noch 4,9% wieder ab, um dann mit einigen Schwankungen auf den im Versuch vom 3. 11. erhaltenen höchsten Wert von 44,0% anzusteigen. Dieser letzte Anstieg ließe sich mit dem Altern der Samen erklären, wodurch, wie noch zu zeigen sein wird, die Lichtabhängigkeit abnimmt. Aber die anderen Schwankungen können nicht erklärt werden.

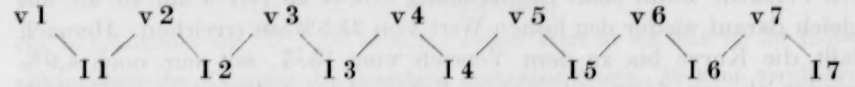
Betrachtet man nun die Kurven für die Lichtabhängigkeit der Keimung in den 2×10 Std.-Versuchen (Abb. 3), deren Werte auf die eingangs beschriebene Weise errechnet wurden, so nimmt die Lichtabhängigkeit bis zum 1. 2. ständig zu, um nach einigen Schwankungen am 15. 7. einen 2. Höchstwert zu erreichen. Von da an wird sie langsam geringer.

Da bei den Vorversuchen des Jahres 1954 die Keimung dann besser war, wenn anstatt mit dem normalerweise verwendeten Leitungswasser mit destilliertem Wasser angefeuchtet wurde, wurden auch zu den hier besprochenen 2×10 Std.-Versuchen Parallelversuche mit Aqua dest. gemacht. Ohne auf Einzelheiten einzugehen, sieht man doch aus dem Kurvenverlauf, daß die Keimung dadurch nicht besser wurde. Eher das Gegenteil ist der Fall. Bemerkenswert ist, daß auch bei diesen Versuchen die Keimung bis zum 1. 2. absinkt. Dann wird sie wieder besser, um nach dem verhältnismäßig hohen Wert von 17,8% in den am 1.4.55 angesetzten Versuchen auf nur noch 1,3% am 1. 6. abzusinken. Hier war also die Lichtabhängigkeit der Keimung wieder sehr groß. Von da an nimmt sie, gleich wie bei den zuvor besprochenen Versuchen, wieder ab. Im mittleren Bereich differieren die beiden Kurven erheblich. Was daran schuld ist, kann nicht gesagt werden.

Wenn wir auch die periodischen Schwankungen, die keinesfalls durch unzulängliche Versuchsbedingungen verursacht sind, auch nicht außer acht lassen wollen, so muß doch darauf hingewiesen werden, daß das Ziel der Untersuchungen ein anderes war. Es sollte zunächst gezeigt werden, daß die Samen der *Oenothera Berteriana* Lichtkeimer sind; und das haben die Versuche eindeutig ergeben. Offensichtlich ist aber die Lichtabhängigkeit im Laufe eines Jahres nicht immer gleich hoch. Ende Januar/Anfang Februar ist sie besonders groß. So war es übrigens auch bei den Vorversuchen des Jahres 1954 gewesen.

Anders sind die Befunde aus den Versuchen mit Samen der *Oenothera odorata*.

*b) Oenothera odorata.* Auch diese Art ist eine isogame Komplexheterozygote mit den Komplexen v und I. Sie hat 7 v- und 7 I-Chromosomen mit folgender Anordnung in der Metaphase der Meiose:




Ihre Samen keimen im Optimalversuch zwischen 80,5 und 91,2% (Abb. 1), also im allgemeinen etwas schlechter als diejenigen der *Oenothera Berteriana.* Auch hier haben wir die üblichen Schwankungen, denen vermutlich keine weitere Bedeutung zukommt. Auch der niedrigere Wert von 74,0% am 17. 10. 55 dürfte irgendwie zufällig bedingt sein.

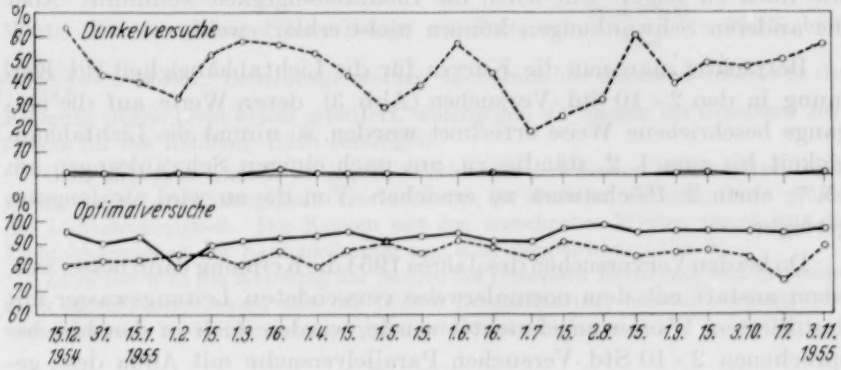



Abb. 1. ——— B · $l_T$; - - - - - v · I

Bei den Dunkelversuchen ist die Keimung recht gut (Abb. 1), aber doch schlechter als bei den Optimalversuchen. Die Keimung wird also durch das Licht gefördert. Wieder fallen die großen Schwankungen auf. Zu 63,8% keimten die Samen am 15. 12. 54. Dann wird die Keimung schlechter. Am 1. 2. sind es nur noch 33,2%. Dann folgt ein Anstieg auf 58,2% am 1. 3. und dann ein erneutes Absinken auf 29,3% am 1. 5. 55, wohingegen am 1. 6. 55 die Keimung mit 56,6% wieder recht gut ist. Alles weitere ist aus der Kurve abzulesen. Wenn oben darauf hingewiesen wurde, daß die möglicherweise nicht festgestellten Schwankungen in der Netzspannung die Schwankungen der Keimung bedingten, so kann das bei den Dunkelversuchen nicht zutreffen.

Die Kurve für die Lichtabhängigkeit der Abb. 3 zeigt eindeutig, daß sie viel geringer ist als bei den Samen der *Oenothera Berteriana* und daß sie periodisch schwankt, wofür keine Erklärung gegeben werden kann.

Bei den 2 × 10 Std.-Versuchen keimen die Samen fast so gut, gelegentlich sogar noch besser als diejenigen der Optimalversuche. Das zeigt

die Lichtabhängigkeitskurve der Abb. 3, denn hier haben wir am 15.12. den Wert 104,8% und am 17.10.55 102,8%. Die Kurven der Abb. 2 lassen keinen Einfluß des Aqua dest. erkennen. Im übrigen verlaufen die beiden Kurven recht ähnlich.

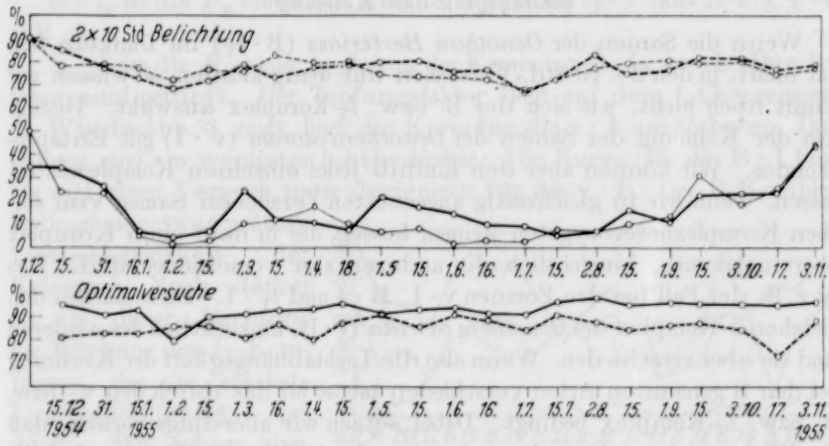



Abb. 2. ——— $B \cdot l_T$ Leitungswasser; ——— $B \cdot l_T$ Aqua dest.; - - - - - $v \cdot I$ Leitungswasser; - - - - - $v \cdot I$ Aqua dest.

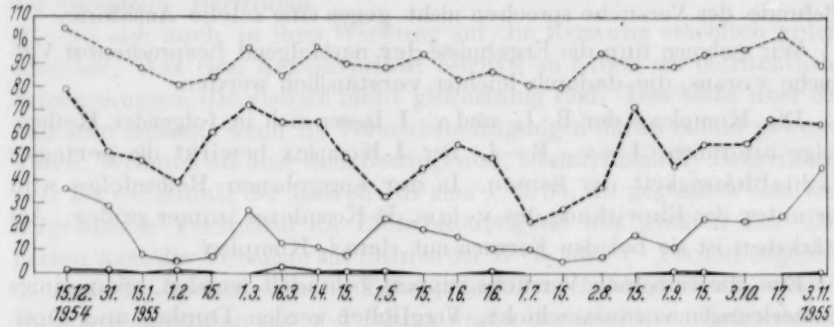


Abb. 3. ——— $B \cdot l_T \left(\frac{\%\ \text{Dunkel} \times 100}{\%\ \text{Optimal}}\right)$ ——— $B \cdot l_T \left(\frac{\%\ 2 \times 10\ \text{Std.} \times 100}{\%\ \text{Optimal}}\right)$
- - - - - $v \cdot I$ - - - - - $v \cdot I$

Wir haben also den günstigen Fall, daß die Samen von 2 Oenotheren-Arten sich hinsichtlich der Keimung grundverschieden verhalten. Vergleichen wir die Kurven für die Lichtabhängigkeit der Abb. 3, so fällt uns der Abfall von höheren Werten am 15. 12. auf niedrigere Werte am 1. 2. auf. Um diese Zeit sind sowohl die *Berteriana*- wie auch die *odorata*-Samen besonders lichtbedürftig. Auch sonst könnten wir manche Übereinstimmung im Kurvenverlauf ablesen. Aber da für die Erklärung der Schwankungen trotz vieler Bemühungen keinerlei Anhaltspunkte gefunden werden konnten, sollen sie künftig nicht weiter

beachtet werden, zumal ja — das sei hier wiederholt — das Ziel der Untersuchungen ein ganz anderes war.

### 2. *Die Prüfung der Komplexe bezüglich ihrer Wirkung auf die Lichtabhängigkeit der Keimung*

Wenn die Samen der *Oenothera Berteriana* ($B \cdot l_T$) im Dunkeln fast gar nicht, in den $2 \times 10$ Std.-Versuchen nur wenig keimen, so wissen wir damit noch nicht, wie sich der B- bzw. $l_T$-Komplex auswirkt. Bezüglich der Keimung der Samen der *Oenothera odorata* ($v \cdot I$) gilt Entsprechendes. Wir können aber den Einfluß jedes einzelnen Komplexes erfassen, wenn wir in gleichzeitig angesetzten Versuchen Samen von solchen Komplexheterozygoten keimen lassen, die in dem einen Komplex übereinstimmen, hinsichtlich des anderen aber verschieden sind. Das ist z.B. der Fall bei den Formen $v \cdot I$, $B \cdot I$ und $l_T \cdot I$. Diese haben den gleichen I-Komplex der *Oenothera odorata* ($v \cdot I$), hinsichtlich des anderen sind sie aber verschieden. Wenn also die Lichtabhängigkeit der Keimung bei den 3 genannten Arten verschieden ist, so ist das durch den v- bzw. B- bzw. $l_T$-Komplex bedingt. Dabei setzen wir allerdings voraus, daß die Wirkung des I-Komplexes bei den 3 verglichenen Formen jeweils die gleiche ist. Ob das richtig ist, läßt sich nicht entscheiden. Die Befunde der Versuche sprechen nicht gegen eine solche Annahme.

Wir nehmen nun die Ergebnisse der nachfolgend besprochenen Versuche voraus, die dadurch leichter verständlich werden.

Die Komplexe der $B \cdot l_T$ und $v \cdot I$ lassen sich in folgender Reihenfolge anordnen: $I - v - B - l$. Der I-Komplex bewirkt die geringste Lichtabhängigkeit der Samen. In der angegebenen Reihenfolge wird sie unter der Einwirkung des v- bzw. B-Komplexes immer größer. Am stärksten ist sie bei den Formen mit dem $l_T$-Komplex.

Ehe die einzelnen Versuchsgruppen behandelt werden, seien einige Bemerkungen vorausgeschickt. Verglichen werden Dunkel- und Optimalversuche. Sie wurden vom 15. 12. 54 bis 3. 11. 55 gemacht, insgesamt jeweils 22, und zwar an den gleichen Tagen wie diejenigen mit Samen der $B \cdot l$ und $v \cdot I$. In den folgenden Abbildungen sind, wenn nicht anders angegeben, von nun an allein die Lichtabhängigkeitskurven mit den Werten $\frac{\%\ \text{Dunkelversuch} \times 100}{\%\ \text{Optimalversuch}} = \cdots\ \%$ wiedergegeben. Je höher die Kurve liegt, desto geringer ist die Lichtabhängigkeit und umgekehrt. In den Abb. 1—3, ursprünglich auf Millimeterpapier gezeichnet, entsprechen die Abstände zwischen den einzelnen Versuchsdaten — an denen also jeweils der Versuch begonnen wurde — den Tagen, die zwischen diesen lagen (1 Tag = 1 mm). In den folgenden Abbildungen sind die Abstände zwischen den Versuchen gleich groß.

Nun sollen die einzelnen Versuchsgruppen besprochen werden. In der Überschrift sind die Komplexheterozygoten aufgeführt, von denen die Samen stammten. Jetzt wird auch deren Herkunft kurz angegeben.

a) $v \cdot I - B \cdot I_t - l_T \cdot I \cdot v \cdot I$ ist die ursprüngliche *Oenothera odorata*.

$B \cdot I_t$ ist die $F_2$ einer $B \cdot I$ aus der Kreuzung $l_T \cdot I$ (aus $B \cdot l \times v \cdot I$) $\times B \cdot l$.

$l_T \cdot I$ ist die $F_2$ einer $l_T \cdot I$ aus der Kreuzung $B \cdot l_T \times v \cdot I$. Ihre Petalen sind getupft. Der Tupfungsfaktor liegt auf dem $l_2$-Chromosom.

Wie die Abb. 4 zeigt, liegt die Kurve für die $v \cdot I$ am höchsten. Ihre Samen sind am wenigsten lichtbedürftig. Die Kurve für die $B \cdot I$ liegt bis auf einen Versuch unter derjenigen für die $v \cdot I$. Der B-Komplex bedingt eine etwas größere Lichtabhängigkeit der Keimung. Noch stärker ist in dieser Richtung die Wirkung des $l_T$-Komplexes, der die stärkste Lichtbedürftigkeit bedingt. Wir sehen also, daß die beiden Komplexe der *Oenothera Berteriana* ($B \cdot l_T$) sich auch in ihrer Wirkung auf die Keimung erheblich unterscheiden. Was den Kurvenverlauf betrifft, so haben wir beträchtliche Schwankungen, die vielfach nicht gleichsinnig sind. Das hätte aber der Fall sein müssen, wenn die Versuchsbedingungen daran schuld gewesen wären. Wodurch sie aber dann bedingt sind, ist unerfindlich. Bemerkenswert ist der Abfall der Kurven bis zum 1. 2. 55, wo gegenüber den vorhergehenden Versuchen die Lichtbedürftigkeit am größten ist. Das hatten auch die Versuche mit Samen der $B \cdot l_T$ und $v \cdot I$ schon ergeben.

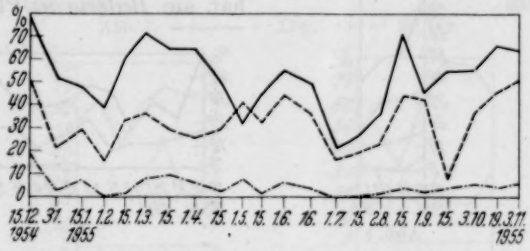


Abb. 4. —— v · I; – – – – B · I; —·—·— $l_T \cdot I$

Auf eine bemerkenswerte Tatsache muß noch hingewiesen werden. In den Selbstungen der $v \cdot I$ fehlen wegen der selektiven Befruchtung die $v \cdot v$. Die $I \cdot I$ sind nicht lebensfähig. Wird die $B \cdot I$ geselbstet, so sind die $I \cdot I$ gar nicht so selten: in 23 Selbstungen wurden 1126 $B \cdot I$ und 231 $I \cdot I$ gezählt. Auch bei 9 Selbstungen der $l \cdot I$ waren es 446 $l \cdot I$, 67 $I \cdot I$ und 28 $I \cdot II$ (Schwemmle 1938, S. 404 und 406). Dabei schwanken die Anteile der abgespaltenen Formen recht erheblich. Es könnte sein, daß die Kurve für die $B \cdot I$ wegen der Anteile an $I \cdot I$, deren Samen weniger lichtbedürftig sind als diejenigen der $B \cdot I$, etwas zu hoch liegt. Aber sicher ist das keinesfalls. Und schon gar nicht ist das bei der $l_T \cdot I$ der Fall. Es könnte sein, daß sowohl bei der $B \cdot I$ die $I \cdot I$-Samen wie besonders bei der $l \cdot I$ die Samen mit anders konstituierten Embryonen unter dem Einfluß des B- bzw. $l_T$-Komplexes des Diplonten zu einer stärkeren Lichtabhängigkeit determiniert werden.

Die Annahme müßte geprüft werden. Keinesfalls aber sind die Schwankungen bei der B · I und $l$ · I durch solche, kurz gesagt, anders konstituierte Samen bedingt, denn die Samen waren zuvor gründlich durchmischt worden.

b) v · I — v · v — v · B — v · $l_T$. Die Homozygote v · v stammte aus den Kreuzungen *Oe. odorata* × Typ A *od.* Pl. Diese ist eine von der v · I abgeleitete Mutante, bei der durch den Pollen nur der v-Komplex vererbt wird.

v · B: Sie wurde ursprünglich aus der Kreuzung $l$ · v (aus B · $l$ × v · I) × B · I erhalten und wurde laufend geselbstet. Die Aufzucht des Jahres 1954 war eine F 17. Gemäß ihrer Herkunft hat sie *Berteriana*-Plasma und -Plastiden.

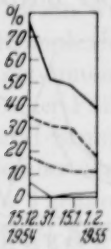



Abb. 5

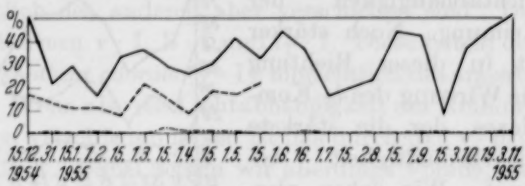



Abb. 6

Abb. 5. ——— v · I; ------ v · v; ·-·-·- v · B; ——— v · $l_T$

Abb. 6. ——— B · I; ------ B · v; ·-·-·- B · $l_T$

v · $l_T$: F 2 einer $l_T$ · v aus $l_T$ · I (aus B · $l_T$ × v · I) × v · I urspr. Form. Auch sie hat *Berteriana*-Plasma und -Plastiden.

Die hier verglichenen Formen haben den v-Komplex gemeinsam. Wie die Abb. 5 eindeutig zeigt, nimmt die Lichtbedürftigkeit in der Reihenfolge I — v — B — $l_T$ zu, wie das eingangs schon angegeben wurde. Von den hier verwendeten Komplexheterozygoten v · I, v · B und v · $l$ werden nur ganz selten v · v abgespalten. Sie allein könnten auftreten. Es stören also keine v · v-Samen den Befund. Bemerkenswert ist, daß auch bei den v · v und v · B die Lichtbedürftigkeit bis zum 1. 2. 55 ständig zunimmt. Das wurde wiederholt schon festgestellt. Leider reichten die Samen der v · v nicht zu mehr Versuchen.

c) I · B — v · B — $l_T$ · B. Die Herkunft dieser 3 Formen, die den B-Komplex gemeinsam haben, ist an anderer Stelle schon angegeben. Wie Abb. 6 zeigt, bedingen die geprüften Komplexe in der Reihenfolge I — v — $l_T$ zunehmend stärkere Lichtbedürftigkeit der Samenkeimung. Diejenigen der schlecht ansetzenden v · B reichten nur zu 11 Versuchen.

d) v · $II_T$ — B · $II_T$. Die Herkunft dieser beiden Formen wird weiter unten angegeben. Sie haben den $II_T$-Komplex gemeinsam. Die Kurven der Abb. 7 lassen klar erkennen, daß der Komplex v vor dem Komplex B einzureihen ist, weiterhin, daß — wie sonst auch — die Lichtbedürftigkeit vom 15. 12. 54 bis zum 1. 2. 55 ständig zunimmt. Die anderen

Schwankungen sind unerklärbar. Auffallend ist, daß sie bei der B · $II_T$ geringer sind als bei der v · $II_T$. Dies deutet wieder darauf hin, daß nicht die Versuchsbedingungen daran schuld sind.

Die Versuche mit Samen der v · $II_T$ und B · $II_T$ aus dem Jahr 1955 sowie der v · $II_t$ und B · $II_t$ wurden im Jahre 1956 noch einmal gemacht. Dabei ist es zunächst wieder gleichgültig, wie die beiden gemeinsamen Komplexe II entstanden sind und wie sich $II_T$ und $II_t$ unterscheiden. Belichtet wurde diesmal 2 × 10 Std. mit 300 Lux. Die Prozentsätze wurden dann auf diejenigen der Optimalversuche bezogen. Die Kurven der Abb. 8a und b zeigen die Lichtabhängigkeit der Keimung. Wieder sind die Samen der v · II weniger lichtbedürftig als diejenigen der B · II. Die Befunde des Vorjahres konnten bestätigt werden. Auf die auch hier auftretenden, unerklärlichen Schwankungen soll lediglich hingewiesen werden.

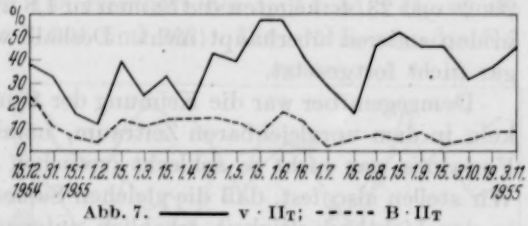



Abb. 7. ——— v · $II_T$; ------ B · $II_T$

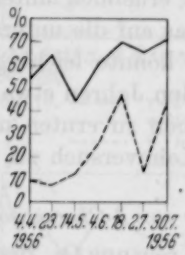



Abb. 8a. ——— v · $II_T$ ------ B · $II_T$

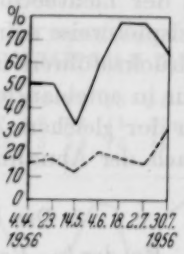



Abb. 8b. ——— v · $II_t$ ------ B · $II_t$

So haben die 4 Versuchsgruppen eindeutig die durch die Komplexe bedingte Reihenfolge zunehmender Lichtbedürftigkeit I — v — B — *l* ergeben. Daß diese aber nicht immer eingehalten wird, zeigt der Vergleich der Versuche mit Samen der v · I *odorata*-Plasma, *odorata*-Plastiden und der I · I. Letztere ist eine mit *Berteriana*-Plastiden lebensfähige Homozygote mit dem I-Komplex der *Oe. odorata* (v · I). Die hier verwendete Form war die F 9 einer I · I, die in der 1942 aufgezogenen Selbstung einer v · I mit *Berteriana*-Plasma und -Plastiden aufgetreten war.

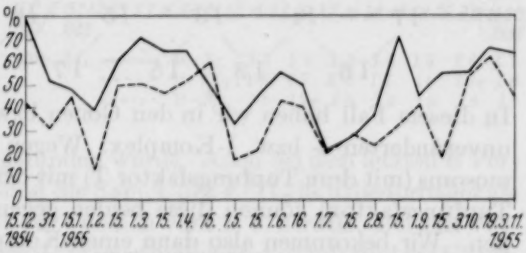



Abb. 9. ——— v · I; ------ I · I

Wie die Abb. 9 zeigt, sind die Samen der I · I zumeist lichtbedürftiger als diejenigen der v · I. Das würde also die Reihenfolge v — I bedeuten. Da die beiden Formen sich aber im Plasma und den Plastiden unterscheiden, ist möglicherweise dadurch der andersartige Befund erklärt.

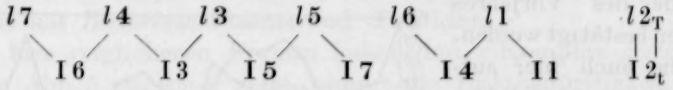
Es muß also gesondert der mögliche Einfluß von Plasma und Plastiden untersucht werden. Geeignete Formen stehen ja zur Verfügung.

Wie oben ausgeführt, waren 1956 Keimversuche mit Samen der $B \cdot II_T$ aus dem Jahre 1955 gemacht worden. Es waren auch Dunkelversuche vom 20. 2. bis 14. 5. angesetzt worden. Nur bei denjenigen vom 20. 2. und 23. 4. keimten die Samen zu 1,8 und 0,6%, also sehr schlecht, in den anderen überhaupt nicht. Deshalb wurden diese Versuche auch gar nicht fortgesetzt.

Demgegenüber war die Keimung der Samen der Ernte 1954 im Dunkeln in dem vergleichbaren Zeitraum, nämlich vom 15. 2. bis 5. 5. des Vorjahres, gar nicht so schlecht (zwischen 14,5 und 7,7%, s. Abb. 7). Wir stellen also fest, daß die gleichen Samen verschiedener Ernten sich in der Lichtbedürftigkeit erheblich unterscheiden können. Es könnte beispielsweise sein, daß das auf die unterschiedlichen Reifebedingungen zurückzuführen ist. Das könnte leicht geprüft werden. Man braucht nur in aufeinanderfolgenden Jahren etwa von der *Oe. Berteriana* jeweils zu der gleichen Zeit Samen zu ernten und diese zu der gleichen Zeit nach der Abnahme im Keimversuch zu prüfen.

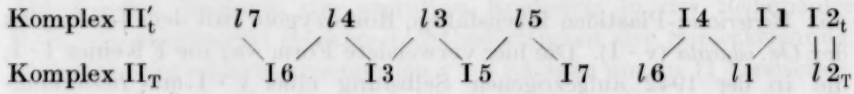
### *3. Die Wirkung von 3 Chromosomen des l-Komplexes*

Bei der $l_T \cdot I$ aus der Kreuzung *Oe. Bert.* $(B \cdot l_T) \times$ *Oe. od.* $(v \cdot I)$ haben wir in der Metaphase der Meiosis folgende Chromosomenanordnung:




In diesem Fall haben wir in den Gonen bzw. den Geschlechtszellen den unveränderten *l*- bzw. I-Komplex. Wegen der Paarung des $l\,2_T$-Chromosoms (mit dem Tupfungsfaktor T) mit dem I 2-Chromosom (ohne den Tupfungsfaktor) können diese beiden gegeneinander ausgetauscht werden. Wir bekommen also dann einen Komplex $l_t$ mit 6 *l*-Chromosomen und einem I-Chromosom (*l* 1, *l* 3, *l* 4, *l* 5, *l* 6, *l* 7 und I 2) und einen $I_T$-Komplex mit 6 I-Chromosomen und dem $l\,2_T$-Chromosom, der nunmehr Tupfung vererbt (I 1, I 3, I 4, I 5, I 6 und $l\,2_T$).

Bei der Anordnung:




erhalten wir einen neuen Komplex $II_T$ mit 4 I- und 3 *l*-Chromosomen (I 3, I 5, I 6, I 7, *l* 1, $l\,2_T$ und *l* 6). Er hat das $l\,2_T$-Chromosom mit dem Tupfungsfaktor. Die Gonen mit dem Komplex II' (4 *l*- und 3 I-Chromosomen) verfallen (LEUCHTMANN 1955). Da auch in diesem Fall das $l\,2_T$-Chromosom gegen das $I\,2_t$-Chromosom ausgetauscht werden

kann, entsteht auch noch der Komplex $II_t$ mit 5 I- und 2 *l*-Chromosomen (I $2_t$, I 3, I 5, I 6, I 7, *l* 1 und *l* 6).

Auf diese Weise ist die Möglichkeit gegeben, die Wirkung von *l*-Chromosomen auf die Samenkeimung zu erfassen. Zunächst sei diejenige der *l* 1-, *l* 2- und *l* 6-Chromosomen behandelt.

a) v · I — v · $II_T$ — v · $l_T$. Die Herkunft der v · I und v · $l_T$ wurde zuvor schon besprochen (s. S. 301 und 302). Die v · $II_T$ war die F 2 einer v · $II_T$ aus der Kreuzung *l* · I (aus B · *l* × v · I) × v · I. Die 3 Formen haben den v-Komplex gemeinsam. Die Chromosomen der zu vergleichenden Komplexe I—$II_T$—$l_T$ sind in der Legende der Abb. 10 zum besseren Verständnis angegeben.

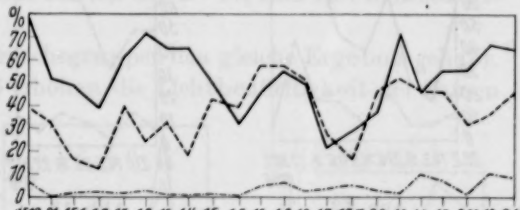



Abb. 10. —— v · I: I 1 I 2 I 3 I 4 I 5 I 6 I 7
- - - - - v · $II_T$: I 3 I 5 I 6 I 7 *l* 1 $l 2_T$ *l* 6
····· v · $l_T$: *l* 1 $l 2_T$ *l* 3 *l* 4 *l* 5 *l* 6 *l* 7

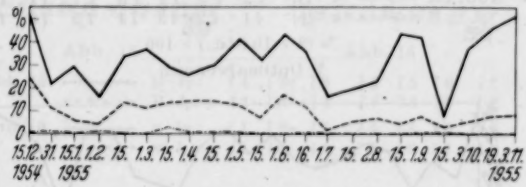



Abb. 11. —— B · I: I 1 I 2 I 3 I 4 I 5 I 6 I 7
- - - - - B · $II_T$: I 3 I 5 I 6 I 7 *l* 1 $l 2_T$ *l* 6
····· B · $l_T$: *l* 1 $l 2_T$ *l* 3 *l* 4 *l* 5 *l* 6 *l* 7

Bei den ersten 9 Versuchen in der Zeit vom 15. 12. 54 bis 15. 4. 55 sind die Samen der v · $II_T$ unter der Wirkung der 3 *l*-Chromosomen offensichtlich lichtbedürftiger als die der v · I. Übrigens sinkt auch die Kurve für die v · $II_T$ ständig bis zum 1. 2. ab, wie das auch sonst gefunden wurde. Auch bei den letzten 6 Versuchen vom 15. 8. bis 3. 11. sind die Samen der v · $II_T$ lichtbedürftiger als die der v · I. Allerdings fällt der Versuch vom 1. 9. heraus. Bei den Versuchen des mittleren Bereiches ist es eher umgekehrt; doch sind die Unterschiede nicht groß. Wodurch das bedingt ist, wissen wir nicht. Wieder sind die großen Schwankungen auffällig. Der Verlauf der Kurve für die Versuche mit Samen der *l* · v zeigt eindeutig, daß deren Samen am stärksten lichtbedürftig sind. Dafür sind die Chromosomen *l* 3, *l* 4, *l* 5 und *l* 7 verantwortlich zu machen, wobei natürlich offenbleiben muß, ob auf allen 4 Chromosomen entsprechend wirkende Faktoren liegen oder nur auf einem usw. Eindeutiger noch sind die folgenden Versuche.

b) B · I — B · $II_T$ — B · $l_T$. Die B · $II_T$ des Jahres 1954 war die F 3 einer B · $II_T$ aus der Kreuzung *l* · I (aus B · *l* × v · I) × B · *l*. Die Herkunft der beiden anderen Formen wurde oben schon besprochen.

Die Samen der B · $II_T$ sind stärker lichtbedürftig als diejenigen der B · I (Abb. 11). Die 3 *l*-Chromosomen sind wie zuvor daran schuld.

Auch hier haben wir die Zunahme der Lichtbedürftigkeit in den Versuchen vom 15. 12. 54 bis 1. 2. 55. Am stärksten lichtbedürftig sind, durch die 4 *l*-Chromosomen *l* 3, *l* 4, *l* 5 und *l* 7 bedingt, die Samen der $B \cdot l_T$. Die beiden Versuchsgruppen zeigen also, daß durch die Chromosomen *l* 1, *l* 2 und *l* 6 die Lichtbedürftigkeit der Samen erhöht wird.

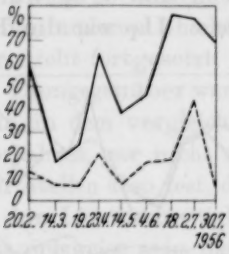



Abb. 12

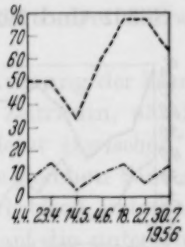



Abb. 13

Abb. 12. —— v · $I_t$: I 1 I 2 I 3 I 4 I 5 I 6 I 7
----- v · $II_t$: I 2 I 3 I 5 I 6 I 7 *l* 1 *l* 6
v · $l_T$: Die Samen keimten im Dunkeln nicht

Abb. 13. ----- v · $II_t$: I 2 I 3 I 5 I 6 I 7 *l* 1 *l* 6
····· v · $l_T$: *l* 1 *l* $2_T$ *l* 3 *l* 4 *l* 5 *l* 6 *l* 7

$$\frac{\%\ (2 \times 10\ \text{Std.}) \times 100}{\%\ \text{Optimalversuch}}$$

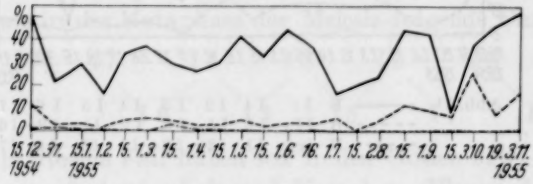



Abb. 14. —— B · I: I 1 I 2 I 3 I 4 I 5 I 6 I 7
----- B · $II_t$: I 2 I 3 I 5 I 6 I 7 *l* 1 *l* 6
····· B · $l_T$: *l* 1 *l* $2_T$ *l* 3 *l* 4 *l* 5 *l* 6 *l* 7

### *4. Die Wirkung von 2 l-Chromosomen des l-Komplexes*

Wie oben ausgeführt, hat der Komplex $II_t$ 5 I- und 2 *l*-Chromosomen (*l* 1 und *l* 6). Damit bestand die Möglichkeit, den Einfluß dieser 2 *l*-Chromosomen zu erfassen.

a) v · I—v · $II_t$—v · $l_T$. Im Jahre 1955 konnte dieser Vergleich nicht durchgeführt werden, da die v · $II_t$ im Jahre 1954 nicht aufgezogen worden war. So wurden 1955 folgende Formen als Samenlieferanten aufgezogen:

v · I *Bert.* Pl. *Bert.* Plstd. Diese war eine F 24 einer v · I aus der Kreuzung *l* · I (aus B · *l* × v · I) × v · I. Ob die Samen dieser v · I anders keimen als diejenigen der ursprünglichen v · I, muß noch geprüft werden.

v · $II_t$. Sie war die F 2 einer v · $II_t$ aus der Kreuzung *l* · $I_{Tt}$ (aus B · $l_T$ × v · I) × v · I.

v · $I_T$. Sie wurde aus der gleichen Kreuzung *l* · $I_{Tt}$ × v · I erhalten.

Vom 20. 2. 56 bis 30. 7. 56 wurden 9 Dunkel- und Optimalversuche angesetzt. Das Ergebnis zeigt ganz klar die Abb. 12. Unter der Wirkung der *l* 1- und *l* 6-Chromosomen sind die Samen der v · $II_t$ viel lichtbedürftiger als diejenigen der v · I. Dabei läßt sich nicht entscheiden, ob beide Chromosomen daran beteiligt sind. Die Samen der $l_T$ · v keimten im Dunkeln überhaupt nicht. Also müssen auf den 5 anderen *l*-Chromosomen (*l* 2, *l* 3, *l* 4, *l* 5 und *l* 7) ebenfalls die Keimung beeinflussende Faktoren liegen. Wie groß deren Wirkung ist, zeigt Abb. 13.

Für die Lichtabhängigkeitskurve wurden die Werte der $2\times10$ Std.-Versuche und der Optimalversuche verwendet. Der Unterschied ist beträchtlich.

b) $B \cdot I - B \cdot II_t - B \cdot l_T$. Die Versuche mit Samen dieser Formen wurden 1955 durchgeführt. Die $B \cdot II_t$ wurde aus der 1954 aufgezogenen Kreuzung $l \cdot I_T$ (aus $B \cdot l \times v \cdot I) \times B \cdot l$ erhalten.

Wie die Abb. 14 zeigt, haben hier die beiden *l*-Chromosomen eine erstaunlich große Wirkung. Die Samen der $B \cdot II_t$ sind viel lichtbedürftiger als die der $B \cdot I$.

So haben diese beiden Versuchsgruppen das gleiche Ergebnis gehabt. Die Chromosomen $l$ 1 und $l$ 6 erhöhen die Lichtbedürftigkeit der Samen und in der gleichen Richtung wirken die anderen 5 Chromosomen des *l*-Komplexes.

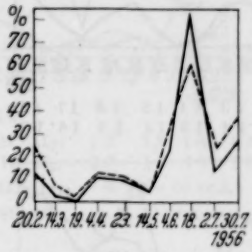



Abb. 15

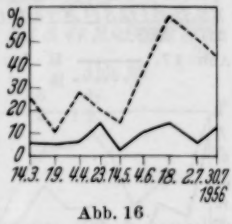



Abb. 16

Abb. 15. ——— $B \cdot l_T$: $l1$ $l2_T$ $l3$ $l4$ $l5$ $l6$ $l7$
------ $B \cdot l_t$: $l1$ $l3$ $l4$ $l5$ $l6$ $l7$ I2

Abb. 16. ——— $v \cdot l_T$: $l1$ $l2_T$ $l3$ $l4$ $l5$ $l6$ $l7$
------ $v \cdot l_t$: $l1$ $l3$ $l4$ $l5$ $l6$ $l7$ I2

### *5. Die Wirkung des $l\,2_T$-Chromosoms*

Wie auf S. 304 ausgeführt wurde, hat ein Komplex, etwa der II-Komplex, sofern er die Tupfung vererbt, das $l\,2_T$-Chromosom. Wenn er Nichttupfung vererbt, ist das $l\,2_T$-Chromosom gegen das I 2-Chromosom ausgetauscht. Wir können also die Wirkung eines einzigen Chromosoms erfassen. Das soll in den folgenden Abschnitten geschehen.

a) $B \cdot l_T - B \cdot l_t$. Die 10 Versuche ($2\times10$ Std.- und Optimalversuche) wurden vom 20. 2. bis 30. 7. 56 mit Samen der Ernte des Jahres 1955 gemacht. Die $B \cdot l_T$ stammte von der 1925 erstmalig aufgezogenen *Oe. Berteriana*. Die $B \cdot l_t$ war die F 4 einer $B \cdot l_t$ aus der Kreuzung $l \cdot I_{Tt}$ (aus $B \cdot l \times v \cdot I) \times B \cdot l$.

Wie die Kurven der Abb. 15 zeigen, sind die Samen der $B \cdot l_t$ etwas weniger lichtbedürftig als diejenigen der $B \cdot l_T$. Doch ist der Unterschied zumeist nicht groß. Bei den Versuchen vom 14. 5. ist überhaupt keiner vorhanden und bei denen vom 18. 6. sind die Samen der $B \cdot l_t$ die lichtbedürftigeren. Warum das so ist, ist unbekannt, ebenso warum bei diesen Versuchen beide Samensorten nur wenig Licht zum Keimen brauchen. Auch die sonstigen Schwankungen können nicht erklärt werden.

b) $v \cdot l_T - v \cdot l_t$. Die Bedingungen bei den ebenfalls 1956 gemachten Versuchen waren die gleichen wie bei denjenigen mit Samen der beiden $B \cdot l$. Im Dunkeln keimten die Samen überhaupt nicht. Die $l_T \cdot v$ und

$l_t \cdot v$ stammten aus der 1955 aufgezogenen Kreuzung $l \cdot I_{Tt}$ (aus $B \cdot l_T \times v \cdot I) \times v \cdot I$. Der $l_T$- und $l_t$-Komplex unterscheidet sich hier bestimmt nur im Besitz des $l\,2_T$- bzw. I 2-Chromosoms.

Aus der Abb. 16 ist eindeutig zu entnehmen, daß die Samen der $v \cdot l_T$ lichtbedürftiger sind als diejenigen der $v \cdot l_t$. Das aber bewirkt allein das Chromosom $l\,2_T$. Da hier der Unterschied viel ausgesprochener ist als bei den Versuchen mit $B \cdot l_T$- und $B \cdot l_t$-Samen, ist es offenbar nicht gleichgültig, welcher Komplex bei den Komplexheterozygoten außer dem $l_T$- bzw. $l_t$-Komplex noch vorhanden ist. Im übrigen ist der Unterschied zwischen der $B \cdot l_T$ und $B \cdot l_t$ einerseits und der $v \cdot l_T$ und $v \cdot l_t$ andrerseits verständlich. Die $l$-Chromosomen bewirken große Lichtbedürftigkeit der Samen. Für die B-Chromosomen gilt das gleiche. Nur ist der Einfluß nicht ganz so groß. Bei der $B \cdot l_t$ mit dem I 2-Chromosom kann sich dieses gegenüber den 6 $l$-Chromosomen und den 7 B-Chromosomen nicht sehr durchsetzen. Deshalb sind die Unterschiede bei den $B \cdot l_T$ und $B \cdot l_t$ nur gering.

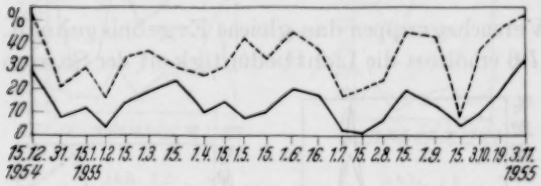



Abb. 17. ——— $B \cdot I_T$: I 1 I 3 I 4 I 5 I 6 I 7 $l\,2_T$
------- $B \cdot I_t$: I 1 I 2 I 3 I 4 I 5 I 6 I 7

Abb. 18. ——— $v \cdot I_T$: I 1 I 3 I 4 I 5 I 6 I 7 $l\,2_T$
------- $v \cdot I_t$: I 1 I 2 I 3 I 4 I 5 I 6 I 7

Bei den $v \cdot l_T$ heben die v-Chromosomen, die eine geringere Lichtbedürftigkeit verursachen, die Wirkung der $l$-Chromosomen zu einem gewissen Grade auf. Wird nun bei der $v \cdot l_t$ das $l\,2$-Chromosom durch das I 2-Chromosom ersetzt, so kann sich dieses stärker auswirken. Die Unterschiede werden größer.

c) $B \cdot I_T$ — $B \cdot I_t$. Diese beiden 1954 aufgezogenen Formen sind die F 2 aus der Kreuzung $l \cdot I_{Tt}$ (aus $B \cdot l_T \times v \cdot I) \times B \cdot l$. Der $I_T$-Komplex hat neben den 6 I-Chromosomen das $l\,2_T$-Chromosom, der $I_t$-Komplex alle 7 I-Chromosomen. Nur darin unterscheiden sie sich. Die in der Hauptsache im Jahre 1955 durchgeführten Versuche (Dunkel- und Optimalversuche) ergaben, daß wieder die $B \cdot I_t$-Samen weniger lichtbedürftig sind als die $B \cdot I_T$-Samen (Abb. 17). Jetzt ist der Unterschied groß, was nach den obigen Ausführungen verständlich ist.

d) $v \cdot I_t$ — $v \cdot I_T$. Die $v \cdot I_T$ war die F 3 einer $v \cdot I_T$ aus der Kreuzung $l \cdot I_{Tt}$ (aus $B \cdot l_T \times v \cdot I) \times v \cdot I$. Gemäß ihrer Herkunft hat sie

*Berteriana*-Plasma und -Plastiden. Ob diese beiden einen Einfluß auf die Lichtabhängigkeit der Samenkeimung haben, ist erst noch zu untersuchen. Die Abb. 18 zeigt, daß auch hier wieder die Samen der $v \cdot I_t$ weniger lichtbedürftig sind als diejenigen der $v \cdot I_T$. Allerdings sind bei 3 Parallelversuchen (am 1. 6., 1. 9. und 19. 10.) keine Unterschiede vorhanden. Einen Grund dafür anzugeben wären wir aber erst in der Lage, wenn wir die starken Schwankungen zu erklären vermöchten. Trotzdem wird man sagen können, daß die 4 oben besprochenen Vergleichsversuche ergeben haben, daß das $l\,2_T$-Chromosom allein schon eine Erhöhung der Lichtbedürftigkeit der Samenkeimung bedingt.

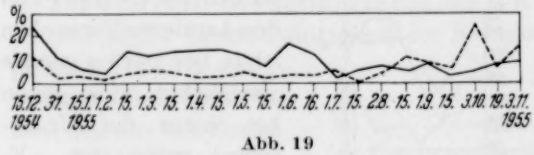



Abb. 19

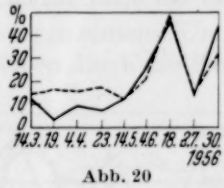



Abb. 20

Abb. 19. ——— $B \cdot II_T$: I 3 I 5 I 6 I 7 *l* 1 *l* 6 $l\,2_T$
------- $B \cdot II_t$: I 3 I 5 I 6 I 7 *l* 1 *l* 6 I 2

Abb. 20. ——— $B \cdot II_T$: % (2 × 10 Std.) × 100 / % Optimalversuch
------- $B \cdot II_t$:

Weniger überzeugend sind die Versuche mit Samen von Komplexheterozygoten, die den $II_T$- bzw. $II_t$-Komplex enthalten. Wie aus der Gegenüberstellung:

$II_T$: I 3 I 5 I 6 I 7 *l* 1 *l* 6 $l\,2_T$
$II_t$: I 3 I 5 I 6 I 7 *l* 1 *l* 6 I 2

ersichtlich ist, unterscheiden sie sich nur in einem Chromosom.

e) $B \cdot II_T - B \cdot II_t$. Die $B \cdot II_T$ war die F 3 einer $B \cdot II_T$ aus der Kreuzung $l \cdot I_{Tt}$ (aus $B \cdot l_T \times v \cdot I) \times B \cdot l$, die $B \cdot II_t$ eine F 1 aus der gleichen 1954 aufgezogenen Kreuzung.

Entgegen allen Erwartungen sind in den Versuchen vom 15. 12. 54 bis 16. 6. 55 die Samen gerade der $B \cdot II_T$ weniger lichtbedürftig als diejenigen der $B \cdot II_t$ (Abb. 19). Hernach sind die Befunde widersprechend. Nur bei den Versuchen vom 3. 10. und 3. 11. ist es so wie bei den zuvor besprochenen.

1956 wurden die Versuche wiederholt. Die 1955 aufgezogenen $B \cdot II_T$ und $B \cdot II_t$ stammten aus Selbstungen des Jahres 1954. Verglichen wurden jetzt $2 \times 10$ Std.- und Optimalversuche. Aus der Abb. 20 ist zu entnehmen, daß bei den ersten 4 Versuchen die $B \cdot II_t$-Samen weniger lichtbedürftig waren als die $B \cdot II_T$-Samen. Hernach ist kein Unterschied mehr vorhanden, und bei den letzten Versuchen ist der Befund der gleiche wie bei den meisten des Vorjahres. Auffallend sind wieder die starken Schwankungen und das Maximum bei den am 18. 6. angesetzten Versuchen.

Bei den Versuchen mit Samen der $v \cdot II_T$ und $v \cdot II_t$ haben wir ähnliche Ergebnisse.

f) $v \cdot II_T - v \cdot II_t$. Die im Jahre 1955 aufgezogenen $v \cdot II_T$ und $v \cdot II_t$ waren die F 2 der aus der 1953 aufgezogenen Kreuzung $l \cdot I_{Tt}$ (aus $B \cdot l \times v \cdot I) \times v \cdot I$ erhaltenen Formen gleicher Konstitution. 1956 wurden 10 Optimalversuche, 10 Dunkelversuche und 7 $2 \times 10$ Std.-Versuche gemacht. Die errechneten Werte für die Lichtabhängigkeit der Samenkeimung sind aus den Kurven der Abb. 21 und 22 zu entnehmen. Die Kurven der Abb. 21 für die Dunkelversuche zeigen, daß bis zum 14. 5., also bei 6 Versuchen, die Samen der $v \cdot II_t$ lichtbedürftiger sind als die Samen der $v \cdot II_T$. Von den 4 anderen Versuchen ist es bei zweien gerade umgekehrt, wenn schon bei einem der Unterschied gering ist. Es fallen wieder die großen Schwankungen auf, die für beide Formen recht ähnlich sind.

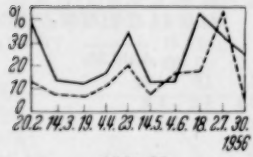



Abb. 21

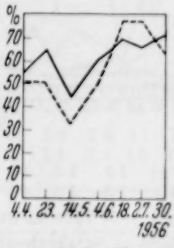



Abb. 22

Abb. 21. ——— $v \cdot II_T$: I 3 I 5 I 6 I 7 $l$ 1 $l$ 6 $l$ 2T
------- $v \cdot II_t$: I 3 I 5 I 6 I 7 $l$ 1 $l$ 6 I 2

Abb. 22. ——— $v \cdot II_T$: % (2 × 10 Std.) × 100
------- $v \cdot II_t$: % Optimalversuch

Bei den $2 \times 10$ Std.-Versuchen (Abb. 22) haben wir die gleichen Befunde. Hier sind bei 2 Versuchen die $v \cdot II_t$-Samen erwartungsgemäß weniger lichtbedürftig als die $v \cdot II_T$-Samen. Bei den anderen ist es aber umgekehrt. Auch bei diesen haben wir große Schwankungen, die aber fast die gleichen sind wie bei den vorbesprochenen Versuchen. Vergleichen wir aber die Abb. 22 und 20 für die Versuche mit Samen der beiden $B \cdot II$ bzw. $v \cdot II$ bei gleichen Versuchsbedingungen, so haben wir bezeichnende Unterschiede. Die Kurve für die $B \cdot II_t$ sinkt bei den Versuchen vom 14. 5. nur geringfügig ab, während diejenige für die $v \cdot II_t$ hier ein ausgesprochenes Minimum hat. Beide erreichen dann am 18. 6. ein Maximum. Darauf sinkt die Kurve für die $B \cdot II_t$ stark ab, um hernach wieder anzusteigen. Der Kurvenverlauf für die $v \cdot II_t$ ist aber ganz anders. Entsprechendes würde ein Vergleich der Kurven für die $B \cdot II_T$ und $v \cdot II_t$ ergeben. Wären die Versuchsbedingungen nicht konstant genug und für die Schwankungen bei den $v \cdot II$-Samen verantwortlich gewesen, so hätten bei den gleichzeitig durchgeführten Versuchen die gleichen Schwankungen auftreten müssen. Aber das ist offensichtlich nicht der Fall.

So haben die Versuche mit den $B \cdot II_T$ und $B \cdot II_t$-Samen bzw. den $v \cdot II_T$- und $v \cdot II_t$-Samen grundsätzlich die gleichen Ergebnisse erbracht. Entgegen den Befunden der in den Abschnitten a—d behandelten

Versuche sind die $B \cdot II_t$- und $v \cdot II_t$-Samen zumeist lichtbedürftiger als die $B \cdot II_T$- und $v \cdot II_T$-Samen. Bei großen Schwankungen kann das aber auch umgekehrt sein. Um eine Erklärung dafür finden zu können, wurden für die 6 Versuche vom 1. 4. bis 16. 6. 55 die Mittelwerte der Lichtabhängigkeitswerte berechnet. Für die verschiedenen Formen wurden folgende Werte erhalten:

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $B \cdot I_t$ | 35,0 | I 3 | I 5 | I 6 | I 7 | I 1 | I 4 | I 2 |
| $B \cdot II_T$ | 13,1 | I 3 | I 5 | I 6 | I 7 | *l* 1 | *l* 6 | $l\,2_T$ |
| $B \cdot II_t$ | 3,2 | I 3 | I 5 | I 6 | I 7 | *l* 1 | *l* 6 | I 2 |
| $B \cdot I_T$ | 12,8 | I 3 | I 5 | I 6 | I 7 | I 1 | I 4 | $l\,2_T$ |

Die 4 verglichenen Formen haben den B-Komplex gemeinsam. Unterschiede in der Lichtabhängigkeit der Keimung müssen durch die Komplexe I, $II_T$, $II_t$ und $I_T$ bedingt sein. Diese haben, wie aus der Zusammenstellung ersichtlich ist, 4 I-Chromosomen gemeinsam. In den 3 anderen Chromosomen unterscheiden sie sich.

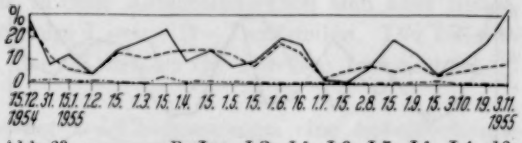



Abb. 23. ——— $B \cdot I_T$: I 3 I 5 I 6 I 7 I 1 I 4 $l\,2_T$
- - - - - - - $B \cdot II_T$: I 3 I 5 I 6 I 7 *l* 1 *l* 6 $l\,2_T$
. . . . . $B \cdot I_t$: *l* 3 *l* 4 *l* 5 *l* 7 *l* 1 *l* 6 $l\,2_T$

Die $B \cdot$ I-Samen mit dem Durchschnittswert von 35,0% sind am wenigsten lichtbedürftig. Sehr viel stärker ist das der Fall bei den $B \cdot I_T$-Samen mit 12,8%. Das $l\,2_T$-Chromosom ist dafür verantwortlich zu machen. Auf ihm müssen ein oder mehrere Faktoren liegen, die eine große Lichtabhängigkeit der Samenkeimung bewirken. Besonders groß ist diese bei den $B \cdot II_t$-Samen. Dies ist durch die *l* 1- und *l* 6-Chromosomen bedingt. Offenbar sind in beiden entsprechend wirkende Faktoren enthalten, obwohl eine Entscheidung in dieser Hinsicht nicht möglich ist. Nach diesen Feststellungen hätte man erwarten können, daß die Samen der $B \cdot II_T$, die die *l* 1- und *l* 6-Chromosomen und dazu noch das $l\,2_T$-Chromosom enthalten, besonders lichtbedürftig wären. Aber das ist keineswegs der Fall. Der für die $B \cdot II_T$ erhaltene Durchschnittswert von 13,1% ist der gleiche wie derjenige der $B \cdot I_T$ mit 12,8%. Wir müssen daraus schließen, daß in diesem Fall das $l\,2_T$-Chromosom die Auswirkung der *l* 1- und *l* 6-Chromosomen verhindert. Damit wird der Verlauf der Kurven der Abb. 23 für die $B \cdot I_T$ und $B \cdot II_T$ verständlich, der doch im allgemeinen recht ähnlich ist. Schwankungen sind aber auch hier festzustellen, und solche haben wir auch bei den Kurven für Versuche mit den $B \cdot II_T$- und $B \cdot II_t$-Samen gehabt (s. Abb. 18 und 19). Dadurch können die $B \cdot II_t$-Samen weniger lichtbedürftig werden als die $B \cdot II_T$-Samen. Diese Tatsachen, wie die Schwankungen überhaupt, könnten wir unter der Annahme verstehen, daß die $II_T$- und $II_t$-Komplexe wie auch der gemeinsame B-Komplex auf unbekannte

und nicht faßbare äußere Bedingungen — Temperatur und Belichtung waren gewiß konstant gewesen —, vor allem aber auf innere Bedingungen, wozu vermutlich auch das Altern der Samen gehört, in charakteristischer, aber verschiedener Weise ansprechen, was wir in der Änderung der Lichtbedürftigkeit der Samen erfassen.

Wir haben für die v · $II_T$- und v · $II_t$-Samen etwa die gleichen Unterschiede gefunden wie für die B · $II_l$- und B · $II_t$-Samen. Auch hier wird es so sein, daß das *l* $2_T$-Chromosom die *l* 1- und *l* 6-Chromosomen in ihrer Auswirkung hemmt. Tatsächlich sind dann auch, wie die Abb. 24 zeigt, die v · $II_T$-Samen, bei denen der $II_T$-Komplex außer dem *l* $2_T$-Chromosom noch die *l* 1- und *l* 6-Chromosomen besitzt, nicht so viel lichtbedürftiger als die v · $I_T$-Samen. Gelegentlich ist kein Unterschied vorhanden. In 7 von 22 Versuchen ist es sogar gerade umgekehrt. Die Schwankungen sind auch viel größer als bei den B · II-Samen (Abbildung 23). Daran mag der v-Komplex schuld sein. Aus den Abb. 23 und 24 ist übrigens noch einmal zu sehen, daß die Samen der B · $l_T$ und v · $l_T$, die außer den B- bzw. v-Chromosomen die 7 *l*-Chromosomen besitzen, die Samen besonders lichtbedürftig sind. Also müssen auch die *l* 3-, *l* 4-, *l* 5- und *l* 7-Chromosomen in dieser Richtung wirksam sein, wobei sich nicht feststellen läßt, wie groß der Anteil jedes einzelnen Chromosoms ist.

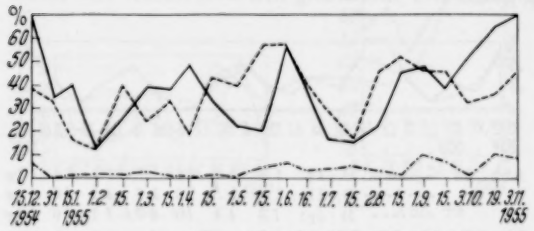



Abb. 24. ——— v · $I_T$: I 3 I 5 I 6 I 7 I 1 I 4 *l* $2_T$
------ v · $II_T$: I 3 I 5 I 6 I 7 *l* 1 *l* 6 *l* $2_T$
------ v · $l_T$: *l* 3 *l* 4 *l* 5 *l* 7 *l* 1 *l* 6 *l* $2_T$

Gewiß wäre es wünschenswert gewesen, so wie das oben geschehen ist, auch die Keimung der v · $I_t$-, v · $II_T$-, v · $II_t$- und v · $I_T$-Samen zu vergleichen. Aber in den beiden Jahren, in denen die Versuche durchgeführt wurden, stand das benötigte Samenmaterial nicht gleichzeitig zur Verfügung. Die Versuche sollen noch durchgeführt werden.

Das genetisch gut bekannte Material hat es also erlaubt, nicht nur den Einfluß der Komplexe der *Oe. Berteriana* (B · *l*) und *Oe. odorata* (v · I) auf die Lichtbedürftigkeit der Samen bei der Keimung zu ermitteln, sondern auch die Wirkung von einzelnen Chromosomen des *l*-Komplexes.

Wenn übrigens die genetische Konstitution des Embryos für die Lichtabhängigkeit der Samen bestimmend ist, so bedeutet das, daß bei diesen Oenotheren-Samen der Samenschale keine oder nur eine untergeordnete Rolle zukommt.

Das hat übrigens schon HONING für die Samen von *Nicotiana* zeigen können. Es gibt dort indifferente Rassen, deren Samen auch im Dunkeln, und solche, die nur nach Belichtung keimen. Samen aus reziproken Kreuzungen keimten im Dunkeln nicht. Das Lichtbedürfnis ist also dominant. Im übrigen sind meines Wissens diese Versuche die einzigen, bei denen genetische Gesichtspunkte maßgebend waren.

## Zusammenfassung

1. Die Samen der *Oenothera Berteriana* mit den Komplexen B und *l* sind bei der Keimung stärker lichtabhängig als diejenigen der *Oenothera odorata* mit den Komplexen v und I.

2. Durch Vergleich solcher Formen, die jeweils einen bestimmten Komplex gemeinsam haben, in dem antagonistischen sich aber unterscheiden, ließ sich die Reihenfolge I — v — B — *l* aufstellen. Der I-Komplex bewirkt die geringste, der *l*-Komplex die stärkste Lichtabhängigkeit.

3. Vermutlich hat jedes der 7 *l*-Chromosomen eine entsprechende Wirkung. Sicher ließ sich das für die 3 Chromosomen *l* 1, *l* 6 und *l* 2 nachweisen. Dabei ist es auffallend, daß das *l* 2-Chromosom den Einfluß der *l* 1- und *l* 6-Chromosomen aufzuheben scheint.

4. Die auffallend großen Schwankungen der Keimprozente bzw. der Lichtbedürftigkeit der Samen während eines Jahres können nicht erklärt werden.

## Literatur

HAUSTEIN, E.: Die Endenbezifferung einiger Oenotheren aus dem *Subgenus Raimannia*. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **84**, 417—453 (1952). — HONING, I. A.: Dominanzwechsel bei der Lichtkeimung. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **2**, Suppl. 861—865 (1928). — LEUCHTMANN, G.: Die Eliminierung von Austauschgonen bei Oenotheren. II. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **86**, 480—497 (1955). — SCHWEMMLE, J. u. Mitarbeiter: Zytologische und genetische Untersuchungen an Eu-Oenotheren. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **75**, 358—800 (1938).

Prof. Dr. J. SCHWEMMLE,
Botanisches Institut der Universität, Erlangen, Schloßgarten 4

Planta 54, 314—325 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

# ZUR KENNTNIS DER SAMENHAARE VON *EPILOBIUM HIRSUTUM**

Von

FERDINAND ESCHENBECHER

Mit 3 Textabbildungen

*(Eingegangen am 5. Oktober 1959)*

Im Rahmen einer unter der Leitung von Herrn Professor Renner ausgeführten Dissertation über die Genetik von *Epilobium hirsutum cruciatum* (ESCHENBECHER 1956) wurden auch Untersuchungen über den Befruchtungsvorgang angestellt, bei denen die Frage des Übergangs von Cytoplasma aus dem Pollenschlauch in den Embryosack geprüft werden sollte. Dieser nur orientierende Versuch führte nicht zum Ziel, aber die Präparate forderten dazu heraus, die Entwicklungsgeschichte der Flughaare am Samen zu verfolgen, an denen Herrn Professor Renner ursprünglich das Auftreten von Luft im Haarlumen interessierte.

Als Fixierungsmittel für die Fruchtknoten und die jungen Früchte dienten die Gemische nach BOUIN und CARNOY, mitunter auch, weil das Cytoplasma und die Plastiden berücksichtigt werden sollten, das nach REGAUD. Nach Anwendung der üblichen Paraffintechnik wurden im Winterhalbjahr 1951/52 4—10 $\mu$ dicke Mikrotomschnitte angefertigt, die — gefärbt mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN und gegengefärbt mit Eosin — in Form von Dauerpräparaten während der folgenden Jahre im Botanischen Institut der Universität München bzw. ab 1956 zu Hause untersucht wurden.

Daß die Größe der Zellkerne in den Haaren im Lauf der Entwicklung zunahm, war ohne weiteres zu erkennen, und es lag nahe, nach endomitotischen Vorgängen zu suchen. Außerdem wurden das Wachstum der Haare und die Struktur der Membran des reifen Flughaares untersucht.

## 1. Entwicklungsgeschichte

Noch ehe das äußere Integument der anatropen Samenanlage bei *Epilobium hirsutum* das innere umwächst, heben sich am chalazalen Pol mehrere, einander direkt benachbarte Epidermiszellen durch starke Plasmavermehrung von ihren Nachbarzellen ab. Sie wachsen zunächst gleichmäßig nach allen Richtungen, wobei sie nur in seltenen Fällen noch eine Teilung erfahren; und etwa zur selben Zeit, da die Embryosackmutterzelle sich im Nucellus ausdifferenziert und teilt, wölben sich die

* Herrn Professor Dr.-Ing. F. WEINFURTNER, TH München-Weihenstephan, zu seinem 60. Geburtstag gewidmet.

Außenwände der plasmareichen Zellen papillös vor: Diese Papillen sind es, die zu den langen einzelligen Flughaaren auswachsen.

Die Ausstülpung von Außenwänden greift vom Pol her auf benachbarte Zellen über, so daß der spätere, in der Fruchtkapsel vom Scheitel des Samenkorns aus aufwärts gerichtete Haarschopf durchschnittlich aus etwa 70—80 Einzelhaaren besteht.

Der zwischen den Epidermiszellen steckende Haarfuß und der darauffolgende basale Teil des Trichoms sind zusammen auf einer 800—1000 $\mu$ langen Strecke plasmareich, solange das Haar lebt; diese Plasmamasse entnimmt aus dem Nucellus die Stoffe, deren der ganze Haarkörper zum Aufbau bedarf. Der Hauptteil des Haares besitzt nur einen dünnen Wandbelag. Die Spitzenregion endlich ist gewöhnlich in einer Ausdehnung von 200—800 $\mu$ wieder stärker mit Plasma angefüllt, das seine größte Dichte meistens in der Mitte dieser Zone, also 100—400 $\mu$ unterhalb der Haarspitze hat. Angetrocknete Überreste dieser apikalen Plasmaansammlung sind im längst abgestorbenen Samenhaar noch deutlich erkennbar.

Mit der Entwicklung der Samenanlage zu dem viel größeren Samen wird der Durchmesser im Fuß und in bescheidenerem Ausmaß in der gesamten basalen Region vergrößert. Das ausgewachsene Haar verjüngt sich dadurch von der Basis gegen die Mitte zu stärker, während im übrigen, größeren Teil seine konische Gestalt kaum auffällt. Eine Unterbrechung erfährt die allmähliche Verjüngung des Haares dort, wo das apikale Plasma am dichtesten ist. Der Durchmesser des Haares ist hier häufig bis zu einem Drittel kleiner als in dem darauffolgenden terminalen Bereich, und aus der Verteilung des Plasmas ist zu schließen, daß das Haar vorzugsweise in dieser verengten Zone knapp unterhalb der Spitze wächst.

Die Ausweitung des Haarkörpers wird durch Substanzeinlagerung in die Primärwand bestritten, die nicht an Dicke einbüßt.

Aus einem Vergleich von Haarzellen verschiedener Entwicklungsstadien geht hervor, daß ihr Längen- und Dickenwachstum nicht synchron verlaufen. Die von der Haarzelle zu bewältigende Streckung kann mit ihrer intensiven Dehnung, besonders im basalen Bereich, nicht Schritt halten. Sie dauert daher noch längere Zeit an, nachdem der endgültige Durchmesser der Haarzelle (basal 30—50 $\mu$) bereits erreicht ist. Die Streckung der Haare ist schließlich so ergiebig (maximale Länge 12000—13000 $\mu$), daß der Schopf eines Samens sich an bis zu 9 darüberstehenden Samen vorbeischiebt; die obersten Schöpfe wachsen in den von Samenanlagen freien obersten Teil des Fruchtknotens hinein.

Obwohl das Samenkorn als Ernährungsbasis für das Flughaar dient, scheint das letztere auch nach einer vorzeitigen Unterbrechung der Samenentwicklung noch eine Weile weiterzuwachsen.

Das Längenwachstum der Haare wird größtenteils von einer 0,2—0,3 $\mu$ dicken Primärwand bestritten, der außen eine dünne Cuticula aufgelagert ist. Erst wenn basal der endgültige Haardurchmesser erreicht ist, setzt im plasmareichen unteren Haarteil ein sekundäres Dickenwachstum ein.

Von der gleichmäßigen Celluloseanlagerung im Haarfuß bleiben nur rundliche oder auch spaltenförmige (bis 4 $\mu$ breite) Tüpfel ausgespart, durch die die Protoplasten der Flughaare miteinander kommunizieren. Im darüberstehenden größeren Teil des basalen Haarkörpers wird das

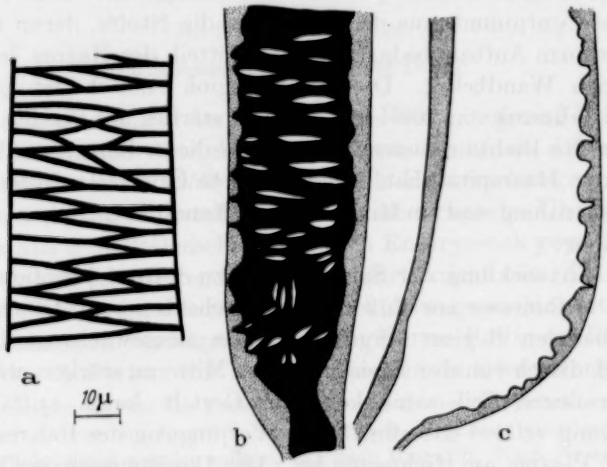



Abb. 1a—c. Längsschnitte durch den Basalteil von Flughaaren. a Verdickungsleisten (frühes Stadium des sekundären Dickenwachstums). b Ausgewachsenes, aber dünneres Haar; Verdickungsleisten zur Sekundärwand verwachsen. c Ausgewachsenes Flughaar; im Schopf peripher inseriert, dadurch deutlicherer Unterschied zwischen Innen- (linke Seite) und Außenflanke (rechte Haarseite)

sekundäre Wandmaterial in querverlaufenden, netzförmig angeordneten Cellulosespangen angelagert (Abb. 1a). Indem sich diese vergrößern, nähern sie sich einander und wachsen gleichzeitig in das Zellumen hinein. Die zwischen den Membranspangen befindlichen, nicht verstärkten Wandpartien schrumpfen dadurch zu schmalen Querspalten in der Sekundärwand zusammen, die auch im ausgewachsenen Haar vielfach noch bis zur Primärwand heranreichen (Abb. 1b). Ihre stärkste Ausprägung erfährt diese Struktur auf der der Schopfaußenseite zugekehrten Haarwand, während auf der Innenseite des Haares, die zum Schopfzentrum hin orientiert ist, die ursprünglich angelegten Membranspangen schließlich so weitgehend miteinander verwachsen, daß die Grenzfläche Sekundärwand/Zellumen annähernd glatt wird (Abb. 1c). Der morphologische Unterschied zwischen den beiden gegenüberliegenden Wandflächen im Basalteil des Haares ist um so deutlicher, je peripherer das Haar im Schopf inseriert ist.

Gegen Ende der Zellstreckung greift das Appositionswachstum auch auf den mittleren und oberen Haarbereich über. Die gleichmäßige Anlagerung der Wandsubstanz führt apikal zu einer Membrandicke von nur 2,0—2,5 $\mu$ gegenüber einer basalen Wandstärke von 6—8 $\mu$.

Die Primärwand der Flughaare ist querstrukturiert; aber wie bei den Baumwollhaaren (WERGIN 1943) ist die negative Doppelbrechung (in bezug auf die Haarachse) schon vor der sekundären Wandverdickung nur schwach erkennbar. Nach Einsetzen des Dickenwachstums wird sie allmählich völlig überlagert durch die positive Anisotropie der größtenteils längsmicellierten Sekundärmembran. Nur an der Haarbasis ist ein schmaler Querstreifen optisch isotrop; auf die Folienstruktur dieser Zone weisen bereits die rundlichen Tüpfel, ganz besonders aber die ungleiche Anordnung der schon erwähnten Spalten (Abb. 1 b) hin (vgl. HABERLANDT 1924). Weiterhin sind auf der Außenflanke (etwa $^3/_5$ des Haarumfangs) des basalen Bereichs, eben dort, wo der spangenförmige Ursprung der sekundären Wandschichten immer erkennbar ist, die Micelle der Sekundärwand senkrecht zur Wachstumsrichtung der Haarzelle orientiert: Die Sekundärwand weist hier wie die Primärwand Röhrenstruktur auf.

Nach Abschluß des Dickenwachstums stirbt das Samenhaar ab. Schon vor der Öffnung der Fruchtkapsel ist sein Lumen mit Gas gefüllt (RENNER 1959).

Wie schon HILDEBRAND (1872) berichtet, sind die ausgewachsenen Haare eines Schopfes je zur Hälfte in einer Rinne der links und einer solchen der rechts von den Samen stehenden Fruchtklappe eingeklemmt. Mit dem Aufspringen der Frucht werden die Haare durch die sich langsam nach außen zurückbiegenden vier Klappen der Kapsel auseinandergezogen, bis schließlich die Haarspitzen aus den Rinnen frei werden und die abstehenden Haare als Gleitvorrichtung das Fortfliegen des Samens ermöglichen.

Daß sich die Flughaare auch durch ungleiche Verkürzung ihrer gegenüberliegenden Wände abspreizen können, vermerkt HILDEBRAND (1872) am Rande. Auch RENNER (1909) erwähnt den Bewegungsmechanismus der Flughaare von *Epilobium* und reiht diese in die Gruppe der selber hygroskopisch krümmungsfähigen Haare ein. Tatsächlich sind die Schrumpfungsachsen der Innen- und Außenflanke der Samenhaare infolge der unterschiedlichen submikroskopischen Struktur gekreuzt. Beim Austrocknen verkürzt sich praktisch nur die Außenflanke in ihrem querstrukturierten basalen Teil, so daß sich das Haar nach außen krümmt. Bei Imbibition mit Wasser ist der Vorgang rückläufig. Eine relative Luftfeuchtigkeit von etwa 95% kann die Bewegung nicht auslösen.

## 2. Das Wachstum des Zellkerns

**a) Rhythmisches Kernwachstum.** Es wurden 167 Kerne in verschiedenaltrigen Samenhaaren und zum Vergleich 30 Kerne aus den beiden Integumenten und dem Nucellus der Samenanlagen ausgemessen. Die Kerne wurden bei 1500facher Vergrößerung (Ölimmersion 100× und Okular 15×) und verlängertem Tubus mit Hilfe eines Abbeschen Zeichenapparates 3000fach vergrößert gezeichnet.

Die Kerne der Integumente und des Nucellus sind annähernd kugelig, ihr Volumen ist deshalb leicht zu berechnen. Auch die Kerne der Epidermiszellen, die zu den Samenhaaren auswachsen, sind anfangs rund, und erst im Lauf der Haarentwicklung werden sie oval bis spindelförmig, selten zylindrisch (vgl. Abb. 2). Das oft ziemlich unregelmäßig gestaltete Bild ihrer medianen Längsschnitte wurde mit Hilfe transparenten Millimeterpapiers in 1 mm lange Stücke zerlegt, die Breite jeder Zone gemessen, das Volumen des ganzen vergrößerten Kerns als Summe der Scheibchen gewonnen. Division dieser Werte durch $3^3 = 27$ ergab das Volumen in $\mu^3$ mit einer für unsern Zweck wohl genügenden Genauigkeit.

Für 15 Kerne aus den Integumenten und dem Nucellus wurde im Durchschnitt ein Volumen von 18,61 $\mu^3$ errechnet, für eine weitere Gruppe von 13 Kernen war das Mittel 27,15 $\mu^3$. Vereinzelte Werte reichten bis zu 50 $\mu^3$.

Der kleinste Kern einer am Anfang ihrer Entwicklung zum Samenhaar stehenden chalazalen Epidermiszelle besaß gleichfalls ein Volumen von 18,6 $\mu^3$. In den übrigen Kernen des gleichen Entwicklungsstadiums betrug das Mittel 29,61 $\mu^3$. Hierbei handelt es sich offenbar um das präendomitotische Stadium, über das TSCHERMAK-WOESS u. HASITSCHKA (1953) und STEFFEN (1955) berichten, und es ist anzunehmen, daß die gleich großen Integument- und Nucelluskerne sich ebenfalls auf dem Weg zur Polyploidisierung befanden.

Angenommen, die Vergrößerung der Haarkerne im Lauf der Entwicklung beruhe auf Polyploidisierung, so war das entsprechende Verhalten der Kerne doch nicht zu verfolgen. Wohl führten die Kernvorgänge zur Ausbildung typischer Sammelchromocentren, wie sie erstmals GEITLER (1941) bei *Lupinus polyphyllus* vorfand, aber eine Abgrenzung endomitotischer Kernstadien auf Grund eines Phasenwechsels dieser Endochromocentren war in den vorliegenden Präparaten nicht möglich, und so blieb nichts anderes übrig, als die ausgemessenen Kerne in Gruppen einzuteilen, die mit einer endomitotischen Vervielfachung der Chromosomenzahl in Verbindung zu bringen sind (Abb. 3).

Aus der Häufigkeit der einzelnen Kernvolumina ergeben sich zunächst einige Dichtemittel, so bei 56, 104, 136, 153, 173, 198, 326 und 558 $\mu^3$. Welche von diesen ein bestimmtes Stadium der endomitotischen Polyploidisierung verkörpern, kann nur unter Berücksichtigung der Ver-

größerungsfaktoren zwischen den einzelnen Maxima entschieden werden. Unter Zugrundelegung des Dichtemittels bei 55,6 $\mu^3$ kommen hierfür nur die Kerne mit einem Volumen von rd. 104, 198, 326 und 558 $\mu^3$ in Betracht,

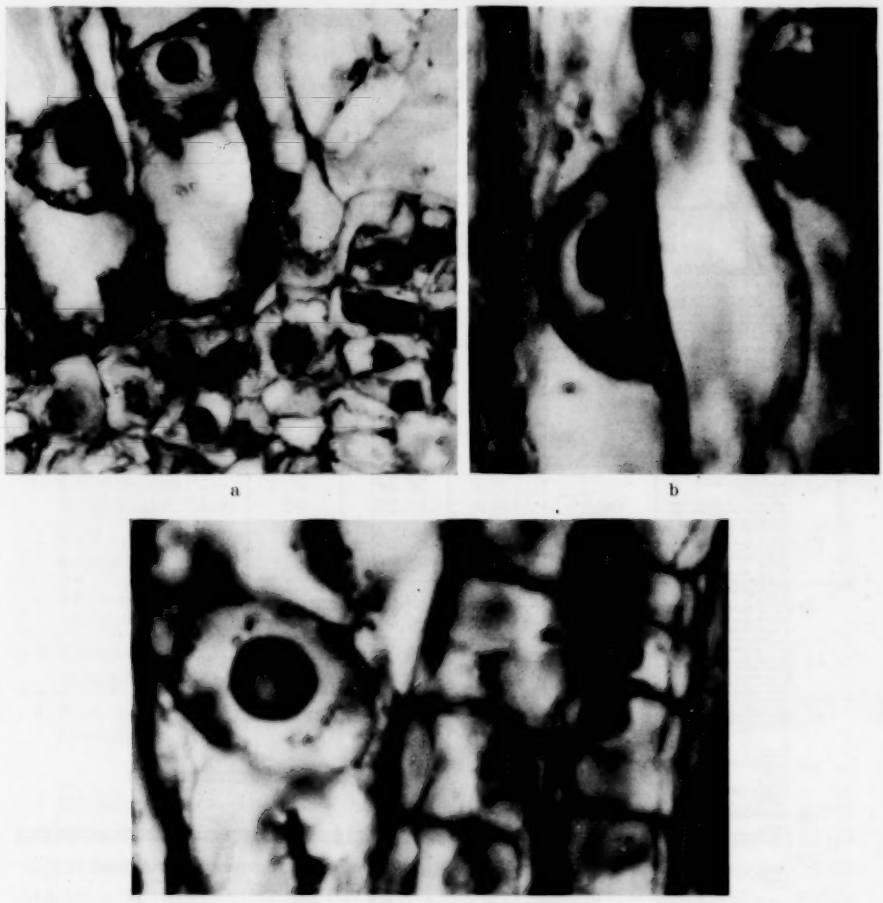


Abb. 2 a—c. Endopolyploide Haarkerne. a Frühes Stadium der Haarentwicklung. Kerne (etwa 16 n) aus dem Haarfuß ausgewandert. Ihre Nucleoli haben die Größe der Chalazakerne erreicht, Vergr. 1230 ×. b Der rechte Haarkern wahrscheinlich 32ploid. Sammelchromocentren und besonders SAT-Endochromocentrum gut sichtbar (auch im Kern links). Vacuolisierte Nucleoli stark vergrößert. c 64ploider Haarkern; neben ihm die beiden Integumente einer benachbart liegenden Samenanlage (Kerngröße!), Abb. 2 b, c Vergr. 1970 ×

und sie gehören wohl dem 4-, 8-, 16-, 32- und 64ploiden Interphasestadium an, wenn man sie mit den normalen diploiden Kernen ($M$ = 18,6 $\mu^3$) und jenen des vermutlich präendomitotischen Stadiums (29,61 $\mu^3$) vergleicht. Zwischen den genannten Maxima liegen noch solche von

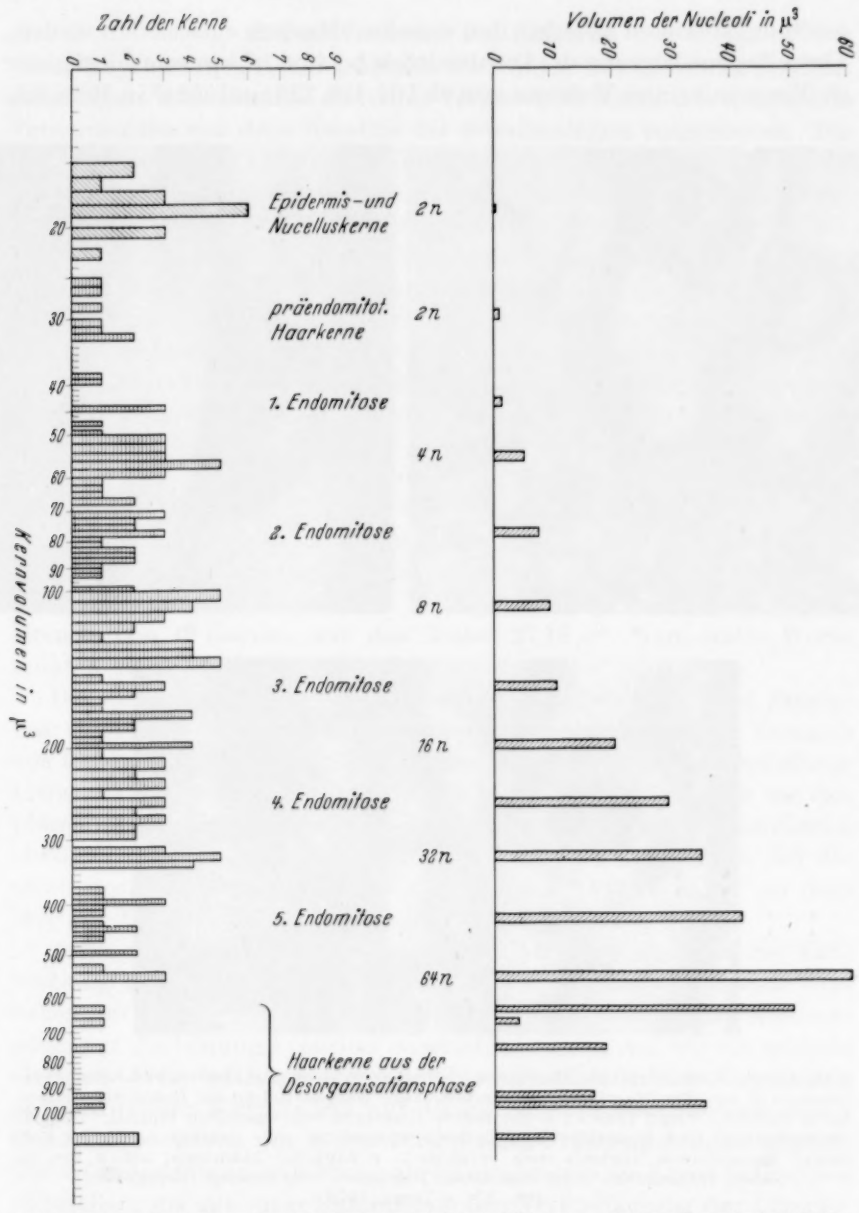



Abb. 3. **Links:** Verteilung der Haarkerne nach ihrem Volumen. Rechts: Durchschnittliche Größe der Nucleoli in den einzelnen Kernstadien. Die Volumina der Nucleoli aus den stark hydratisierten Kernen sind einzeln angegeben

meist geringerem Ausmaß. Diese werden fraglos von Kernen gebildet, die sich auf dem Weg zur nächsthöheren Polyploidiestufe befinden.

Die genaue Berechnung der verschiedenen Mittelwerte, sowohl der Interphase- als auch der endomitotischen Kerne, stößt auf Schwierigkeiten, weil sich ihre Verteilungskurven gewöhnlich überschneiden. Die Zuordnung von Kernen, die zwischen zwei Gesamtheiten liegen, wurde daher nur nach der jeweiligen Häufigkeit der zwei verschiedenen Phänotypen entschieden (WELCH 1939). Die danach sich ergebenden Mittelwerte für die einzelnen Kernstadien und deren Größenverhältnisse sind in Tabelle 1 wiedergegeben.

Tabelle 1. *Kernvolumina*

| | Zahl der Kerne | *M*-Wert in $\mu^3$ | *M*-Wert bezogen auf | | Vergrößerungsfaktor | Prophasischer Zuwachs in % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Interphasekern | Epidermis- und Nucelluskern | | |
| Epidermis- und Nucelluskerne (2n) | 16 | 18,61 | | 1,00 | | |
| *Endomitose:* Interphase (2n) | 7 | 29,61 | 1,00 | 1,59 | 1,00 | |
| 1. Endomitose . . | 6 | 43,27 | | | | 52,48 |
| Interphase (4n) | 20 | 55,64 | 1,88 | 2,99 | 1,88 | |
| 2. Endomitose . . | 24 | 78,58 | | | | 44,51 |
| Interphase (8n) | 16 | 107,18 | 3,62 | 5,76 | 1,93 | |
| 3. Endomitose . . | 29 | 148,91 | | | | 47,31 |
| Interphase (16n) | 8 | 195,39 | 6,60 | 10,50 | 1,82 | |
| 4. Endomitose . . | 21 | 251,93 | | | | 43,44 |
| Interphase (32n) | 12 | 325,55 | 10,99 | 17,49 | 1,67 | |
| 5. Endomitose . . | 14 | 430,47 | | | | 48,04 |
| Interphase (64n) | 4 | 543,95 | 18,37 | 29,23 | 1,67 | |

Problematisch ist der Charakter der Kerne, deren Volumen noch größer ist als das der 64ploiden. Der größte von ihnen hat mit 1135 $\mu^3$ sogar mehr als den doppelten Inhalt der 64ploiden Haarkerne ($M$ = 543,95 $\mu^3$), und er ist 61mal so groß wie normal diploide Kerne der Samenepidermis ($M$ = 18,61 $\mu^3$). Man könnte zunächst versucht sein, auch diese Volumenzunahme noch mit endomitotischen Vorgängen in Verbindung zu bringen, wenn nicht ihre Strukturlosigkeit — Chromocentren fehlen völlig — zu denken gäbe. An allen bisher untersuchten Objekten wurde, wenigstens postendomitotisch, eine Hydratation beobachtet, und es scheint, daß auch die über das Maß der 64ploiden Kerne hinaus fortschreitende Volumenzunahme der Riesenkerne allein auf einer solchen nichtprotoplasmatischen Substanzeinlagerung beruht. Den wichtigsten Hinweis für diese Annahme liefert das Nucleolenwachstum.

**b) Nucleolenwachstum.** STEFFEN (1955) hat in einer eigenen Untersuchung die Größenzunahme der Nucleoli in endomitotischen Kernen genau verfolgt und dabei der gegenseitigen Abhängigkeit des Kern- und Nucleoluswachstums sein besonderes Augenmerk geschenkt. Er konnte wie alle anderen Autoren einen engen Zusammenhang zwischen den Endomitoseerscheinungen und der Vermehrung der Nucleolarsubstanz feststellen.

Tabelle 2. *Nucleolusvolumina*

| | Zahl der Nucleoli | *M*-Wert in $\mu^3$ | *M*-Wert bezogen auf | | Vergrößerungsfaktor | Prophasischer Zuwachs in % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Nucleoli in Interphasekernen | Nucleoli in Epidermis- und Nucelluskernen | | |
| Epidermis- und Nucelluskerne (2n) | 16 | 0,40 | | 1,00 | | |
| *Endomitose:* Interphase (2n) | 7 | 0,97 | 1,00 | 2,43 | 1,00 | |
| 1. Endomitose . . | 6 | 1,48 | | | | 11,67 |
| Interphase (4n) | 20 | 5,34 | 5,51 | 13,35 | 5,51 | |
| 2. Endomitose . . | 24 | 8,10 | | | | 58,11 |
| Interphase (8n) | 16 | 10,09 | 10,40 | 25,23 | 1,89 | |
| 3. Endomitose . . | 29 | 11,37 | | | | 12,38 |
| Interphase (16n) | 8 | 20,43 | 21,06 | 51,08 | 2,02 | |
| 4. Endomitose . . | 21 | 29,64 | | | | 61,32 |
| Interphase (32n) | 11 | 35,45 | 36,55 | 88,63 | 1,74 | |
| 5. Endomitose . . | 14 | 41,62 | | | | 29,41 |
| Interphase (64n) | 3 | 56,43 | 58,18 | 141,08 | 1,59 | |

Auch in den polyploiden Kernen der Flughaare von *Epilobium* ist ein starkes Anwachsen der Kernkörperchen zu beobachten, und die Vermehrung der Nucleolarsubstanz ist noch intensiver als das Kernwachstum selber (Tabelle 2).

In unseren Mikrotomschnitten betrug das Volumen der Nucleolen von diploiden Epidermis- und Nucelluskernen im Durchschnitt 0,4 $\mu^3$, bei den im Mittel auf 27,15 $\mu^3$ angewachsenen Epidermiskernen 0,5 $\mu^3$. Ebenso groß (0,5 $\mu^3$) war auch der Nucleolus in dem kleinsten Haarkern (18,6 $\mu^3$), während sein Volumen in der Gruppe der präendomitotischen Samenhaarkerne (29,61 $\mu^3$) auf 0,97 $\mu^3$ angestiegen war und im 4n-Stadium bereits mehr als die 13fache Größe der Kernkörperchen in den Epidermiszellen erreichte. Bis zum 8n- bzw. 16n-Stadium nimmt das Nucleolusvolumen abermals um rd. 100% zu und steigt schließlich in den 64ploiden Haarkernen bei zuletzt geringeren Vergrößerungsfaktoren auf

58,18 $\mu^3$, das ist das 141fache Volumen der Nucleoli in den diploiden Epidermiskernen; das größte hatte gar ein Volumen von 87,0 $\mu^3$.

Beachtung verdient das Verhalten der Nucleoli in den Haarkernen, deren Volumen größer ist als das eines 64ploiden Kerns. Mit dem weiteren Größenzuwachs werden die Umrisse und Innenstrukturen der Kerne undeutlicher, und die sich scharf abhebende Nucleolarsubstanz schrumpft mehr und mehr (Abb. 3), bis schließlich in älteren Stadien vom Kern lediglich der Nucleolus übrig ist, dessen Volumen in den beobachteten Fällen 1,7—7,0 $\mu^3$ ausmachte.

Selten treten in den Nucleolen tetraploider Kerne stark lichtbrechende und unregelmäßig geformte Vacuolen auf, die von den 16n-Kernen ab häufiger werden und schließlich fast allen Nucleoli der höher polyploiden Kerne eigen sind (Abb. 2b, c), vielfach sogar in der Mehrzahl. Das Gesamtvolumen dieser Vacuolen ist allerdings, wie schon STEFFEN (1955) bemerkt, recht gering im Verhältnis zur Größe der Kernkörperchen — gewöhnlich weit unter 10% derselben; es wurde aber dennoch bei allen Nucleoli vom Volumen abgezogen. In den schrumpfenden Nucleolen der hydratisierten Kerne (Volumen $> 600\ \mu^3$) schwinden die Vacuolen allmählich, und so waren die Kernkörperchen unserer vier größten Haarkerne mit mehr als 900 $\mu^3$ Inhalt wieder vacuolenfrei.

**c) Das Verhalten des Haarkerns im Vergleich zur Samenentwicklung.** Die endomitotische Polyploidisierung der Haarkerne setzt in einem frühen Stadium der Samenentwicklung ein. Schon bevor die chalazalen Epidermiszellen, die zu den Samenhaaren auswachsen, sich vorstülpen, wächst in mehreren von ihnen das Kernvolumen; dies trifft sich zeitlich mit dem Eintritt der Embryosackmutterzelle in die Reduktionsteilung. Wenn dann im Nucellus die vier Makrosporen vorliegen, sind die Haarkerne vielfach schon tetra- bzw. octoploid. Ist in den Samen der Eiapparat fertig ausgebildet bzw. sind nach erfolgter Befruchtung bereits Proembryonen sichtbar, so liegen in den Flughaaren 16ploide Kerne ebenso vor wie Riesenkerne, deren Volumen nach Erreichen des 64n-Stadiums (Kernvolumen etwa 544 $\mu^3$) durch Hydratation zusätzlich auf das Doppelte, z. B. 1135 $\mu^3$, angewachsen ist. In diesem Zustand haben die Kerne längst ihre endgültige Lage in der Haarzelle eingenommen. Mit der schlauchförmigen Entwicklung der jungen Haarzellen verlassen sie nämlich sehr bald ihre ursprünglich basale Position und wandern aus dem Epidermisniveau aus, wobei sie ihre anfangs kugelige Gestalt verlieren und oval bis spindelförmig werden. Schließlich gewinnen die Kerne von der Haarbasis einen Abstand von 150—350 $\mu$, das entspricht zu diesem Zeitpunkt einer halben bis ganzen Samenkornlänge. Aus dieser immer noch basalen Lage steuern sie das Zellgeschehen, bis sich ihrer eine zunehmende Degeneration bemächtigt: Während die Embryonen 64- bis 256zellig sind (selten früher), werden die Umrisse der stark

hydratisierten Haarkerne allmählich undeutlich, und bald sind außer den stark geschrumpften, nunmehr vacuolenfreien Nucleoli keinerlei Innenstrukturen mehr erkennbar. Vereinzelt können zwar noch 200—700 $\mu^3$ große Kerne beobachtet werden, aber schließlich bilden die geschwundenen Nucleoli die einzigen Überreste der hochpolyploiden Haarkerne; ihre Lage gegenüber den intakten Kernen ist unverändert. Die weitere Entwicklung der Flughaare vollzieht sich in Abwesenheit auch von Kernresten.

---

Im Vorbeigehen mag darauf hingewiesen sein, daß nach KOWALEWITZ (1956) die Rhaphidenschläuche von *Epilobium* und *Oenothera*, die 1 bzw. 1,4 mm lang werden, ihre Differenzierung mit einer Teilung des Zellkerns einleiten. Die gepaarten Kerne sind doppelt so groß wie die der Epidermiszellen, um ein Drittel größer als die des Mesophylls, Polyploidie scheint nicht vorzuliegen.

## Zusammenfassung

Die Bildung der einzelligen Flughaare am chalazalen Pol der *Epilobium*-Samen setzt etwa dann ein, wenn im Nucellus die Reduktionsteilung abläuft. Sie ist unabhängig von der Differenzierung des Eiapparates und wird ebensowenig durch die spätere Embryoentwicklung beeinflußt. Wie die normal entwickelten Flughaare an tauben Samen zeigen, verläuft ihr Wachstum selbst nach einem etwaigen Ausbleiben der Befruchtung normal; nur eine Unterbrechung der Samenbildung selber hat durch das Versiegen des Nahrungsstromes einen vorzeitigen Stillstand des Haarwachstums zur Folge. Wenn die reife Fruchtkapsel aufspringt, sind die Samenhaare längst abgestorben; ihr Lumen ist mit Gas gefüllt.

Die Hauptstreckungszone der rasch wachsenden Samenhaare liegt knapp unterhalb der Haarspitze. Das sekundäre Dickenwachstum äußert sich im unteren Haarteil zunächst in der Bildung von querverlaufenden Cellulosespangen, die erst allmählich miteinander verwachsen zur Sekundärwand; deren Außenfläche ist auch im ausgewachsenen Zustand von Querspalten vielfach durchsetzt (Abb. 1b, c).

Die Primärwand der Flughaare ist ringstrukturiert. Die mächtige Sekundärmembran zeigt weitgehend Faserstruktur; nur in dem basalen, von Querspalten durchbrochenen Teil der Außenflanke sind die Micelle wie in der Primärwand ringförmig angeordnet. Die damit senkrecht aufeinanderstehenden Schrumpfungsachsen der beiden basal gegenüberliegenden sekundären Wandschichten befähigen die toten Flughaare zu hygroskopischen Bewegungen.

Die ursprünglich kugeligen Haarkerne wandern, während sie gleichzeitig oval bis spindelförmig werden, aus dem Epidermisniveau aus, verharren aber trotz des Spitzenwachstums in der basalen Zone.

Die Rückschlüsse, die das rhythmische Kernwachstum, die Kernstrukturen und die Vergrößerung des Nucleolus in Analogie zu Objekten mit gesicherter Endomitose zulassen, berechtigen bei den Samenhaaren zur Annahme endomitotischer Vorgänge, die bis zur 64-Ploidie führen. Die Zahl der Chromocentren bleibt dabei gleich, während ihre Größe gleichsinnig mit dem Kernvolumen wächst. Die Vergrößerungsfaktoren der Kernvolumina von einem Interphasestadium zum nächsten sind: 1,88, 1,93, 1,82, 1,67, 1,67.

Das noch stärkere Wachstum des Nucleolus (Vergrößerungsfaktoren: 5,51, 1,89, 2,02, 1,74, 1,59), besonders zu Beginn der Haarentwicklung, hängt wohl mit der ergiebigen Eiweißsynthese zusammen, die mit der Vergrößerung des Haarvolumens auf mehr als das 5000fache der Haarinitialen einhergeht. Während der postendomitotischen Kernvergrößerung durch reine Kernsaftvermehrung schrumpft das Volumen des funktionslos gewordenen Nucleolus stark zusammen. Dennoch überdauert er alle anderen Strukturen der hydratisierten und in Degeneration begriffenen Kerne, ja sogar diese selber.

Herrn Professor O. Renner danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für sein reges Interesse, das er dem Fortgang der Untersuchung bekundete.

## Literatur

Eschenbecher, F.: Über den Erbgang der Sepaloidie bei Epilobium. Z. Bot. **44**, 89—108 (1956). — Geitler, L.: Das Wachstum des Zellkerns in tierischen und pflanzlichen Geweben. Ergebn. Biol. **18**, 1—54 (1941). — Endomitose und endomitotische Polyploidisierung. Protoplasmatologia, VI C. Wien 1953. — Haberlandt, G.: Physiologische Pflanzenanatomie, 6. Aufl., S. 514, Leipzig 1924. — Hildebrand, F.: Über die Entwickelung der haarigen Anhänge an Pflanzensamen. Bot. Ztg **30**, 233—239, 257—270 (1872). — Kowalewitz, Rose: Zur Kenntnis von Epilobium und Oenothera. 1. Über die Rhaphidenschläuche. 2. Über intergenerische Transplantation. Planta (Berl. ) **47**, 501—509 (1956). — Renner, O.: Zur Morphologie und Ökologie der pflanzlichen Behaarung. Flora (Jena) **99**, 127—155 (1909).— Pro domo in Sachen Gasvacuolen. Ber. dtsch. bot. Ges. **72**, 159—165 (1959). — Steffen, K.: Kern- und Nucleolenwachstum bei endomitotischer Polyploidisierung. (Ein Beitrag zur karyologischen Anatomie von Pedicularis palustris L.) Planta (Berl.) **45**, 379—394 (1955). — Tschermak-Woess, E., u. G. Hasitschka: Veränderungen der Kernstruktur während der Endomitose, rhythmisches Kernwachstum und verschiedenes Heterochromatin bei Angiospermen. Chromosoma **5**, 574—614 (1953). — Welch, B. L.: Note on discriminant functions. Biometrica **31**, 218—220 (1939). — Wergin, W.: Über den Feinbau der Zellwände höherer Pflanzen. Biol. Zbl. **63**, 350—370 (1943).

Dr. Ferdinand Eschenbecher,
Institut für Gärungsphysiologie und Techn. Mikrobiologie
der Technischen Hochschule München-Weihenstephan

Planta 54, 326—332 (1960)

Aus der Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung, Karlsruhe

# ÜBER VORKOMMEN UND ENTSTEHUNGSBEDINGUNGEN DES FARBSTOFFES INTYBIN

Von

ERWIN WINTER

Mit 2 Textabbildungen

*(Eingegangen am 7. November 1959)*

In einer früheren Mitteilung wurde die Bildung eines roten, Intybin genannten Farbstoffes bei vier Compositen beschrieben (WINTER 1958). Im Anschluß an die zuerst bei *Cichorium endivia* beobachtete Entstehung des Intybins war eine Anzahl von Vertretern verschiedener Pflanzenfamilien auf etwaige Bildung des Farbstoffes geprüft worden (WINTER 1950). Hierbei ergab sich, daß nur die vier erwähnten Compositen Intybin bildeten, so daß es den Anschein hatte, daß die Farbstoffbildung eine Familieneigenschaft der Compositen sei. Um durch die Beantwortung dieser Frage einen Einblick in die allgemeine Bedeutung des Intybins für die Pflanze zu gewinnen, wurden in der vorliegenden Arbeit Angehörige einer größeren Anzahl von Familien auf ihre Fähigkeit zur Bildung des Farbstoffes untersucht.

## Versuchsdurchführung

Für die Versuche zur Bildung des Intybins wurden frisch geerntete Blätter in etwa 2 mm breite und 20 mm lange Stücke zerschnitten. Die Schnitte wurden zusammen mit einem Filterpapierstreifen in 0,005 molare Kaliumbicarbonatlösung gebracht und 42 Std lang belüftet. Die Ausführung der Versuche erfolgte im übrigen in derselben Weise wie in der erwähnten Arbeit (WINTER 1958), aus der weitere Einzelheiten zu entnehmen sind.

Die Bildung von Farbstoff war an einer sich allmählich verstärkenden Färbung der Versuchslösung zu erkennen. Das sich in der Lösung ansammelnde Intybin wurde vom eingebrachten Filterpapier adsorbiert. Die Adsorptionsgeschwindigkeit war verhältnismäßig gering, was auch zur Folge hatte, daß die Lösung beim Versuchsende positiv verlaufener Bildungsversuche in der Regel rot gefärbt war. Eine Sättigung des Filterpapiers trat jedoch nur in Ausnahmefällen bei sehr starker Intybinbildung ein. Trotz nicht quantitativer Adsorption war die Farbtiefe des Filterpapieres ein brauchbares Maß für die vom Pflanzengewebe in 42 Std an die Lösung abgegebene Intybinmenge.

Die Farbtiefe des angefärbten, getrockneten Filterpapiers wurde im Colorimeter Elko II mit Filter S 53 gegen leeres Filterpapier bestimmt. Hierbei entsprachen die Extinktionen 0,1, 0,2, 0,3, 0,5 und 0,7 etwa den Färbungen Spur rosa, schwach rosa, rosa, stark rosa und rot. Das nicht immer ganz gleichmäßige Verhalten der verschiedenen Probepflanzen erlaubte keine genauere Festlegung der Extinktionswerte. Die Absorptionsspektren wurden mit einem Unicam SP 500 Spektralphotometer gegen leeres Filterpapier aufgenommen.

Die Versuche zur $p_H$-Abhängigkeit der Intybinbildung wurden in derselben Weise, jedoch mit 0,02—0,05 molaren Natriummaleinatpufferlösungen von verschiedenem $p_H$-Wert sowie mit 0,005—0,05 molaren Kaliumbicarbonatlösungen ausgeführt. Die $p_H$-Werte wurden vor und nach dem Versuch mit einer Glaselektrode gemessen. Sie veränderten sich bei diesen Versuchen im allgemeinen nur wenig.

## Verhalten der Pflanzenfamilien

Es wurden vorwiegend einheimische[1] Pflanzen aus 107 Familien geprüft, von denen 11 den niederen Pflanzen, 16 den Monocotylen und 80 den Dicotylen angehörten. Eine Bildung von Intybin konnte bei

Tabelle. *Farbstoffbildende Familien und Arten.* (Die Zahl der untersuchten Gattungen ist in Klammern hinter den Familiennamen angegeben)

| | Extinktion E | Hauptmaxima mμ | Optimum $p_H$ | | Extinktion E | Hauptmaxima mμ | Optimum $p_H$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Araceae* (4) | | | | *Compositae* (30) | | | |
| *Arum maculatum* . . | 0,1 | 502, 544 | — | *Eupatorium cannabinum* | 0,1 | — — | — |
| *Monstera deliciosa* . | 0,1 | 503, 543 | — | *Helianthus tuberosus* . . | 0,2 | — — | — |
| *Scindapsus aureus* . | 0,1 | 503, 541 | — | *Helianthus annuus* . . . | 0,1 | 505, 545 | — |
| *Ranunculaceae* (10) | | | | *Dahlia variabilis* . . . | 0,1 | 505, 545 | — |
| *Aquilegia vulgaris* . | 0,5 | 507, 544 | 7,2 | *Galinsoga parviflora* . . | 0,2 | — — | 6,4 |
| *Anemone nemorosa* . | 0,1 | 503, 544 | — | *Anthemis arvensis* . . . | 0,1 | 502, 545 | — |
| *Ranunculus ficaria* . | 0,1 | 504, 545 | — | *Artemisia vulgaris* . . . | 0,2 | 504, 545 | 6,4 |
| *Ranunculus acer* . . | 0,3 | 504, 544 | 6,3 | *Tussilago farfara* . . . | 0,3 | 507, 547 | — |
| *Cruciferae* (12) | | | | *Senecio vulgaris* . . . . | 0,2 | — — | — |
| *Alliaria officinalis* . | 0,1 | 505, 545 | 6,2 | *Senecio aquaticus* . . . | 0,3 | 503, 542 | — |
| *Celastraceae* (1) | | | | *Calendula officinalis* . . | 0,1 | — — | — |
| *Evonymus europaea* | 0,3 | 506, 546 | 7,3 | *Arctotis grandis* . . . . | 0,2 | 502, 543 | — |
| *Evonymus latifolia* . | 0,2 | 506, 545 | — | *Arctium lappa* . . . . | 0,5 | 503, 542 | — |
| *Apocynaceae* (3) | | | | *Cirsium arvense* . . . . | 0,1 | — — | — |
| *Vinca minor* . . . . | 0,0 | — — | — | *Centaurea rhenana* . . . | 0,1 | — — | — |
| *Allamanda carthartica* . . . . . | 0,1 | 505, 543 | — | *Cichorium intybus* . . . | 0,5 | 506, 545 | — |
| *Asclepiadaceae* (2) | | | | *Cichorium endivia* . . . | 0,7 | 506, 545 | 7,8 |
| *Asclepias cornuti* . . | 0,1 | 504, 543 | — | *Lampsana communis* . | 0,1 | — — | — |
| *Ceropegia robinsoniana* . . . . . | 0,1 | 505, 543 | — | *Tragopogon pratensis* . | 0,2 | — — | — |
| *Caprifoliaceae* (3) | | | | *Scorzonera hispanica* . . | 0,5 | 506, 545 | — |
| *Lonicera periclymenum* . . . . . | 0,1 | 504, 545 | 5,7 | *Taraxacum officinale* . | 0,5 | — — | 6,6 |
| *Dipsacaceae* (2) | | | | *Sonchus asper* . . . . . | 0,1 | — — | — |
| *Dipsacus silvester* . . | 0,1 | 504, 542 | — | *Mycelis muralis* . . . | 0,5 | 503, 542 | — |
| *Cephalaria pilosa* . . | 0,1 | 503, 544 | — | *Lactuca scariola* . . . . | 0,5 | — — | — |
| | | | | *Lactuca sativa* . . . . . | 0,7 | 505, 545 | 7,0 |
| | | | | *Crepis biennis* . . . . . | 0,3 | 507, 547 | — |
| | | | | *Crepis virens* . . . . . | 0,2 | — — | — |
| | | | | *Hieracium vulgatum* . . | 0,3 | — — | — |
| | | | | *Hieracium umbellatum* . | 0,1 | 504, 543 | — |

9 Familien nachgewiesen werden und zwar bei den *Araceae*, *Ranunculaceae*, *Cruciferae*, *Celastraceae*, *Apocynaceae*, *Asclepiadaceae*, *Caprifoliaceae*, *Dipsacaceae* und *Compositae*. Die Tabelle gibt eine Übersicht

[1] Für die freundliche Überlassung einiger tropischer Pflanzen sei hier Herrn Prof. Dr. H. Kühlwein, Karlsruhe, bestens gedankt.

über die aufgefundenen farbstoffbildenden Arten, wobei auch die gemessene Farbtiefe E angeführt ist. Aus der Übersicht geht hervor, daß in der Regel jeweils mehrere Gattungen und Arten einer Familie Intybinbildung zeigten, wie es bei einer Familieneigenschaft zu erwarten ist. Ein vereinzeltes Auftreten von Farbstoffbildung innerhalb einer Familie konnte mit Sicherheit nur bei den Cruciferen beobachtet werden. Sowohl in bezug auf die Zahl der farbstoffbildenden Arten als auch in bezug auf die jeweils gebildete Menge des Farbstoffes überragten die

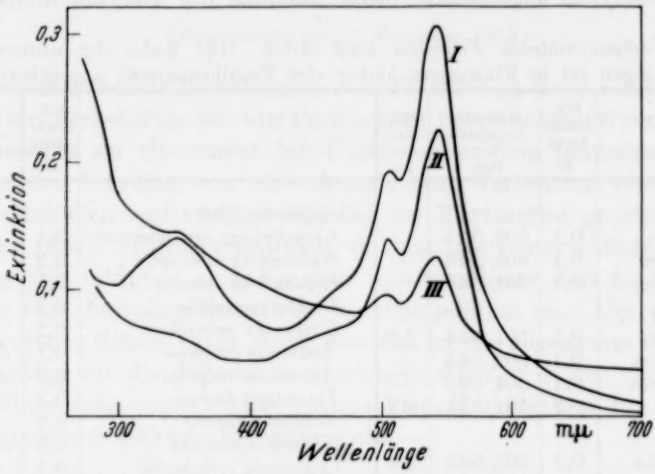



Abb. 1. Absorptionsspektrum von angefärbtem Filterpapier aus Bildungsversuchen mit *I Aquilegia vulgaris, II Evonymus europaea, III Cephalaria pilosa.* — Spektralphotometer Unicam SP 500

Compositen die anderen Familien bei weitem. Bei diesen wieder standen *Cichorium endivia* und *Lactuca sativa* an der Spitze, dicht gefolgt von *Arctium lappa*, *Cichorium intybus*, *Scorzonera hispanica*, *Taraxacum officinale*, *Mycelis muralis* und *Lactuca scariola*. Mit Ausnahme von *Aquilegia vulgaris*, *Ranunculus acer* und *Evonymus europaea* zeigte sich dagegen bei den übrigen acht Familien durchweg nur eine schwache Farbstoffbildung.

Zum Beweis, daß es sich mit einer noch zu besprechenden Ausnahme bei allen Pflanzen um denselben Farbstoff handelt, wurde bei den Nichtcompositen und einem Teil der Compositen das Spektrum der angefärbten Filterpapiere aufgenommen, wobei sich stets dieselben typischen Farbkurven ergaben, von denen die beiden Hauptmaxima in der Tabelle angeführt sind. Diese lagen bei 505 und 545 mμ, wobei das längerwellige Maximum immer eine höhere Extinktion zeigte. Die geringen Schwankungen waren meist auf die Ungenauigkeit der Messung bei schwacher Färbung zurückzuführen. Außerdem wurde in der Regel

auch bei 330 bis 340 mμ ein wenig ausgeprägtes Maximum gefunden. Abb. 1 zeigt die Spektren für *Aquilegia vulgaris*, *Evonymus europaea* und *Cephalaria pilosa*.

Zur weiteren Bestätigung der Identität wurde der Farbstoff aus den angefärbten Filterpapieren durch Ausziehen mit Methanol und Eindampfen in festem Zustand isoliert und auf seine Farbreaktion mit konzentrierter Schwefelsäure geprüft. Intybin löst sich in konzentrierter

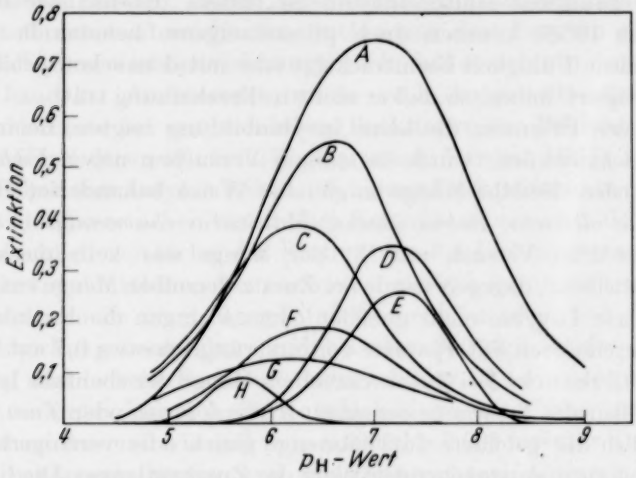



Abb. 2. Extinktion von angefärbtem Filterpapier in Abhängigkeit vom $p_H$-Wert der Versuchsflüssigkeit für *A Lactuca sativa*, *B Taraxacum officinale*, *C Ranunculus acer*, *D Aquilegia vulgaris*, *E Evonymus europaea*, *F Artemisia vulgaris*, *G Alliaria officinalis*, *H Lonicera periclymenum*. — Colorimeter Elko II mit Filter S 53

Schwefelsäure mit leuchtend blauer Farbe, welche einige Stunden beständig ist. Das Absorptionsmaximum der blauen Lösung liegt bei 616 mμ.

## Bildungsoptimum

Die Abhängigkeit der Intybinbildung vom $p_H$-Wert der Versuchsflüssigkeit zeigt Abb. 2 für einige der untersuchten Pflanzen. Die in der Tabelle angegebenen optimalen $p_H$-Werte liegen zwischen 5,7 und 7,8. Die Maxima zeigen größtenteils die Tendenz, sich bei schwächerer Farbstoffbildung nach kleineren $p_H$-Werten zu verschieben. Diese Verschiebung könnte durch pflanzeneigene Hemmstoffe bedingt sein, welche im alkalischen Gebiet stärker hemmend wirken als im sauren.

Bei den der Tabelle zugrunde liegenden Bildungsversuchen wurden in der Versuchsflüssigkeit $p_H$-Werte zwischen 5,5 und 7,5 gemessen. Sie lagen somit im Gebiet der Maxima von Abb. 2. Eine genaue Einstellung auf das jeweilige Optimum war allerdings bei den Bildungsversuchen nicht immer zu erreichen, so daß schon verhältnismäßig kleine

Änderungen im $p_H$-Wert bei Wiederholungen zu etwas abweichenden Intensitätswerten der Färbung führen konnten. In ungünstigen Fällen war es sogar möglich, daß dadurch eine Intybinbildung der Beobachtung völlig entging.

### Einfluß von Hemmstoffen

Wenn bei vielen Pflanzen keine sichtbare bzw. meßbare Färbung festzustellen war, so beweist dies nicht, daß dem betreffenden Pflanzengewebe die Fähigkeit fehlte, Intybin zu bilden. Ebenso wie fremde (vgl. Winter 1958) konnten auch pflanzeneigene, hemmende Stoffe eine vorhandene Fähigkeit beeinträchtigt oder mit dem schon gebildeten Farbstoff reagiert haben, so daß er nicht in Erscheinung trat.

Um bei den Pflanzen, die keine Intybinbildung zeigten, hemmende Einflüsse nachzuweisen, wurde in einigen Versuchen neben *Cichorium endivia* $^1/_{10}$ oder dieselbe Menge in gleicher Weise behandelter Blätter von *Brassica oleracea*, *Rubus idaeus*, *Matricaria chamomilla* u. a. zugesetzt. Bei dem Versuch mit $^1/_{10}$ der Menge war kein merklicher Einfluß feststellbar, dagegen wurde bei Zusatz derselben Menge entweder überhaupt kein Intybin mehr gebildet oder es gingen die Extinktionswerte der angefärbten Filterpapiere von ursprünglich etwa 0,7 auf Werte von 0,1 bis 0,3 zurück. Bei Zusatz derselben Menge der ebenfalls Intybin bildenden Pflanzen *Evonymus europaea*, *Arctium lappa* oder *Taraxacum officinale* blieb die gebildete Intybinmenge gleich oder verringerte sich nur wenig bis zum entsprechenden Wert der Zusatzpflanze. Die filtrierten Preßsäfte der hemmenden Pflanzen zeigten, in vergleichbaren Mengen zugesetzt, ebenfalls eine Hemmwirkung. Sie war hier jedoch größer und trat in entsprechend geringerem Ausmaß auch mit filtrierten Preßsäften Intybin bildender Pflanzen auf. Dies ist wohl darauf zurückzuführen, daß durch die Zerstörung der Zellen beim Pressen weitere hemmende Stoffe frei werden. Vorheriges 5 min langes Erhitzen der Schnitte oder der Preßsäfte auf 100° C beseitigte die Hemmwirkung nicht.

Diese Beobachtungen lassen es möglich erscheinen, daß bei den Pflanzen, bei denen keine Farbstoffbildung zu beobachten war, das Auftreten des Intybins durch gleichzeitig vorhandene oder entstandene Hemmstoffe verhindert wurde.

### Weitere Farbstoffe

Bei *Vinca minor* bildete sich zwar ebenfalls ein roter Farbstoff in der Lösung, jedoch war der trübrote Farbton auffallend verschieden von den übrigen Färbungen und außerdem wurde der Farbstoff weder an Cellulose noch an Talkum adsorbiert. In der Versuchslösung gemessen waren zwei undeutliche Maxima bei etwa 496 und 516 m$\mu$ erkennbar, welche sich kaum aus dem Untergrund heraushoben. *Cichorium endivia*

zeigte bei einem entsprechenden Versuch in der Lösung sehr deutliche Maxima bei 495 und 529 mμ. Gegen Säure und Lauge war der Farbstoff von *Vinca minor* ähnlich empfindlich wie Intybin, wobei er sich jedoch merklich anders verhielt. Vermutlich handelte es sich um einen verwandten Farbstoff.

Bei einigen Compositen war die Bildung eines roten Farbstoffes unter dem Einfluß von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure beobachtet worden (Swanson u. Mitarb. 1956). Nach den angeführten Angaben zeigt dieser Farbstoff neben abweichenden auch einige dem Intybin sehr ähnliche Eigenschaften, und es erscheint möglich, daß es sich um denselben Farbstoff handelt. Andererseits wurde auch festgestellt, daß chlorierte Phenolderivate bei enzymatischen Reaktionen zur Bildung roter Farbstoffe Anlaß geben können (Waggoner u. Dimont 1957), welche keine Ähnlichkeit mit Intybin haben. Bei einer Nachprüfung in entsprechenden Bildungsversuchen konnte bei Konzentrationen von 0,2 bis 20 mg/l kein merklich verstärkender Einfluß von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure auf die Intybinbildung bei *Cichorium endivia* festgestellt werden. Bei Konzentrationen über 20 mg/l (0,0001 molar) machte sich dagegen eine Hemmwirkung bemerkbar, und bei über 200 mg/l in der umgebenden Lösung wurde kein Farbstoff mehr gebildet. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure hemmte demnach die Intybinbildung bei *Cichorium endivia* in ähnlichem Ausmaß wie andere in 0,0001 bis 0,001 molarer Konzentration stark hemmende Stoffe, z. B. 2,4-Dinitrophenol, Cumarin und Indol.

In Keimlingen von *Zea mays* war ein roter Farbstoff unbekannter Konstitution gefunden worden, in dem eine Anthocyan-Vorstufe vermutet wurde (Urban 1958). Da eine Beziehung dieses Farbstoffes zu Intybin möglich schien, wurden die roten Wurzeln von Maiskeimlingen mit Methanol ausgezogen, wobei eine rosa gefärbte Lösung erhalten wurde. Das Spektrum zeigte nur ein schwaches Maximum bei 522 mμ. Bei Zugabe von Salzsäure (Endkonzentration 0,2% HCl), wobei sich die Lösung kräftig rot färbte, entstand ein ausgeprägtes Maximum bei 525 mμ, das einem Anthocyan zuzuschreiben ist. Der Abdampfrückstand des ursprünglichen Auszuges ergab — ebenfalls den Anthocyanen entsprechend — eine orangerote Farbreaktion mit konz. Schwefelsäure. Intybin war demnach in Maiskeimlingen nicht nachzuweisen. Auch bei Ausführung von Bildungsversuchen in der oben beschriebenen Weise mit Samen, Keimlingswurzeln oder ausgewachsenen Blättern von *Zea mays* konnte kein Intybin erhalten werden.

## Ergebnis

Aus den Versuchen geht hervor, daß die Bildung des Intybins keine Eigentümlichkeit der Compositen allein ist, wenn der Farbstoff auch bei diesen am häufigsten auftritt. Weiterhin ergibt sich, daß bei den

verschiedenen Familien mit einer Ausnahme stets derselbe, Intybin genannte Farbstoff gebildet wird. Bei den niederen Pflanzen und Archichlamydeen konnte das Intybin bisher nicht beobachtet werden. Über die restlichen Ordnungen des Pflanzensystems liegen die neun Familien, bei denen der Farbstoff nachgewiesen werden konnte, so verstreut, daß sich seine Bildung kaum mit verwandtschaftlichen Beziehungen in Verbindung bringen läßt. Bei dem offensichtlichen Einfluß organeigener, hemmender Stoffe auf die Farbstoffbildung wäre eher anzunehmen, daß die Anwesenheit oder Abwesenheit bzw. eine besonders hohe Konzentration solcher Hemmstoffe eine Eigentümlichkeit der entsprechenden Familien, Gattungen oder Arten ist. Dies hieße, daß das Intybin häufiger gebildet werden kann, als es nach den bisherigen Ergebnissen den Anschein hat, daß es aber vielfach durch Hemmstoffe an seinem Auftreten verhindert wird.

## Zusammenfassung

1. Bei 9 Pflanzenfamilien wurde die Entstehung des Farbstoffes Intybin nachgewiesen. Der optimale $p_H$-Wert war verschieden und lag zwischen 5,7 und 7,8.

2. Es handelte sich bei allen untersuchten Pflanzen, mit Ausnahme von *Vinca minor*, um denselben roten Farbstoff.

3. Preßsäfte und Gewebeschnitte von Pflanzen, bei denen kein Intybin gefunden wurde, hemmten oder verhinderten die Farbstoffbildung.

## Literatur

SWANSON, C., S. HENDRICKS, V. TOOLE and C. HAGEN: Effect of 2,4-dichlorphenoxy-acetic acid and other growth-regulators on the formation of a red pigment in Jerusalem artichoke tuber tissue. Plant Physiol. **31**, 315—316 (1956). — URBAN, R.: Physiologische Untersuchungen über einige Flavonoide und Oxyzimtsäuren. I. Auswahl und Identifizierung der bearbeiteten Stoffkomponenten. Planta (Berl.) **52**, 47—64 (1958). — WAGGONER, P., and A. DIMONT: Altering the pigments produced by tyrosinase and orthohydroxyphenols with a metahydroxyphenol, 4-chlororesorcinol. Plant Physiol. **32**, 240—242 (1957). — WINTER, E.: Unveröffentlicht 1950. — Bildung eines roten Farbstoffes in verletztem Pflanzengewebe. Planta (Berl.) **52**, 187—194 (1958).

Dr. ERWIN WINTER,
Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung,
Karlsruhe, Kaiserstraße 12

## Aufnahmebedingungen

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Für die Rechtschreibung ist die „Wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt. Wenn nötig, wird die Angleichung durch die Herausgeber bzw. durch die Druckerei vorgenommen.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photographien. Einzelfiguren einer Abbildung sind, falls es sich um Vorlagen für Strichätzungen handelt, wenn möglich so zusammenzustellen, daß sie in *einem* Klischee bei gleicher Verkleinerung reproduziert werden können. Buchstaben u.a. sind mit Bleistift beizufügen.

Die Texte zu den Abbildungen sind auf eigenem Blatt gesammelt beizugeben.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse (höchstens 1 Seite) anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch abgefaßt sein kann.

Zu den Literaturverzeichnissen: Bei Zeitschriftenartikeln sollen der Titel sowie erste und letzte Seite angegeben werden. In den Titeln von Büchern aller Sprachen sollen, zur Kennzeichnung gegenüber Artikeln in Zeitschriften, Substantiva wie Adjektiva groß, dagegen in den Abkürzungen von Zeitschriftentiteln die Substantiva groß und die Adjektiva klein geschrieben werden (z. B. Cell Res., aber cell. Physiol.).


# Ergebnisse der Biologie

Herausgegeben von H. AUTRUM, E. BÜNNING, K. v. FRISCH, E. HADORN, A. KÜHN, E. MAYR, A. PIRSON, J. STRAUB, H. STUBBE, W. WEIDEL. Redigiert von H. AUTRUM

Einundzwanzigster Band

Mit 42 Abbildungen. IV, 226 Seiten Gr.-8°. 1959. DM 30,—

INHALTSÜBERSICHT

Die Nitratreduktion grüner Pflanzen. Von E. KESSLER, Marburg/Lahn · Die Orientierung nach der Schwingungsrichtung linear polarisierten Lichtes und ihre sinnesphysiologischen Grundlagen. Von K. STOCKHAMMER, München · Über die Beteiligung von Sulfhydrylen an biologischen Prozessen. Von G. CLEFFMANN, Marburg/Lahn · Der Feinbau der Organoide von Amoeba proteus und seine Beeinflussung durch verschiedene Fixierstoffe. Von F. E. LEHMANN, Bern, Schweiz · The Ultrastructure of the Retinal Receptors of the Vertebrate Eye. By F. S. SJÖSTRAND, Stockholm, Schweden · Die Lageorientierung mit Statolithenorganen und Augen. Von H. SCHÖNE, Seewiesen über Starnberg/Obb. · Namen- und Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

# Zeitschrift für Vererbungslehre

Herausgegeben und geleitet von

CH. AUERBACH · H. BAUER · E. HADORN · F. KAUDEWITZ · A. KÜHN
G. MELCHERS · F. OEHLKERS · F. RYAN · H. STUBBE

Begründet als

„Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre" 1908

Herausgegeben von

C. CORRENS · V. HAECKER · G. STEINMANN · R. v. WETTSTEIN
ERWIN BAUR u. a.

Band 1—81 (1944) Berlin, Gebr. Borntträger
ab Band 82 (1948) Berlin, Springer

Erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden
Jährlich erscheinen etwa $1^1/_4$ Bände, der Band zu etwa 4—5 einzeln berechneten Heften
Der Preis wird jährlich maximal DM 200,— betragen

*Zuletzt erschien:*

90. Band, 3. Heft: Mit 66 Textabbildungen. Seite 299—444
Abgeschlossen am 6. November 1959. DM 36,80

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany